

### ***4.3.. Implications des gènes et facteurs de transcription dans la pathogénie de la maladie surrénalienne***

De nombreux gènes et facteurs de transcription interviennent lors de la mise en place de tumeurs surrénaliennes productrices de stéroïdes sexuels après gonadectomie, comme nous allons le détailler par la suite. Ces facteurs interagissent entre eux et le déséquilibre créé par la gonadectomie modifient ces interactions. Le mécanisme de mise en place de la maladie surrénalienne semble donc plus compliqué qu'une simple stimulation des cellules surrénaliennes par la LH comme on le pensait précédemment.

Les cellules germinales sous-capsulaires exprimant *Sfl* ont des capacités stéroïdogéniques limités dues à l'expression *Sfl*-dépendante de *Dax 1*, un gène lié au chromosome X qui code pour un répresseur de l'expression de gènes stéroïdogéniques (Bielinska *et al.*, 2009).

En réponse à l'ACTH, les cellules germinales exercent un rétrocontrôle négatif sur *Dax 1*, et les cellules se différencient en cellules productrices de corticostéroïdes qui expriment GATA-6, un facteur de transcription qui agit en synergie avec *Sfl* entre autres pour augmenter l'expression de gènes impliqués dans la biosynthèse de corticoïdes (Bielinska *et al.*, 2009).

Une déficience en *Dax 1* chez les Hommes et les souris mène à une différenciation excessive des cellules germinales subcapsulaires et à long terme à une déplétion de la population de cellules germinales (Bielinska *et al.*, 2009 ; Achermann *et al.*, 2001). Histologiquement, les surrénales d'individus ayant une déficience en *Dax 1* sont caractérisées par un cortex stéroïdogéniques désorganisé contenant des cellules géantes.

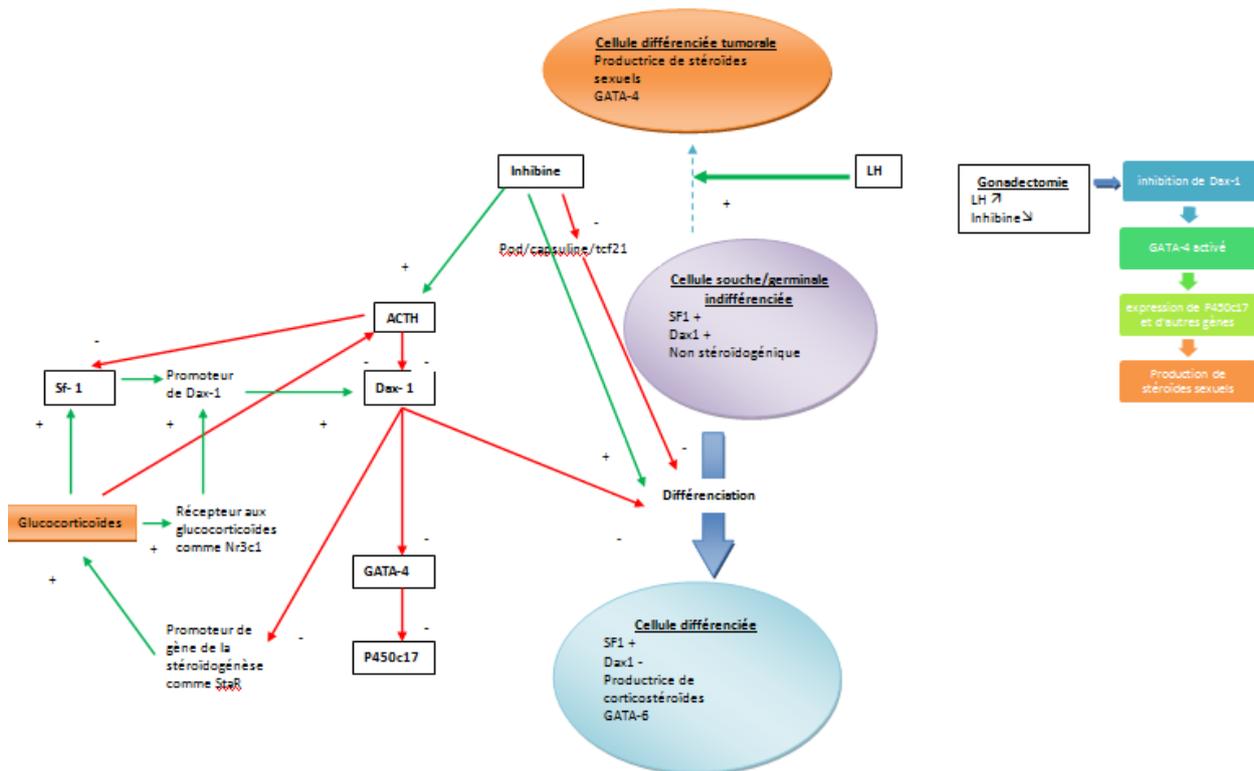
Dans un micro-environnement hormonal normal, les cellules souches/germinales pluripotentes de la région subcapsulaire de la surrénale peuvent se différencier en cellules stéroïdogéniques qui ressemblent aux cellules gonadiques (Bielinska *et al.*, 2009).

En réponse aux changements hormonaux accompagnant la gonadectomie (augmentation de LH, diminution d'inhibine...) les cellules germinales subcapsulaires *Sfl* positives inhibent *Dax 1* et activent GATA-4, un facteur de transcription qui conduit à l'expression de *P450c17* et d'autres gènes impliqués dans la stéroïdogénèse sexuelle (Bielinska *et al.*, 2009).

Figure 36: Schéma bilan de l'implication des gènes et facteurs de transcription et du rôle possible de la gonadectomie dans le développement de la maladie surrénalienne du furet

Légende :

→ + = Active  
 → - = Inhibe



#### 4.4. Rôle de la photopériode

Comme nous l'avons précisé précédemment, la photopériode semble jouer un rôle dans la mise en place de la maladie surrénalienne. En effet, les furets de chasse élevés en extérieur ne semblent pas touchés par la maladie (Boussarie, 2008). De longs cycles de lumière, supérieurs à huit heures, stimuleraient la synthèse de GnRH et de LH et diminueraient le taux de mélatonine circulante, hormone anti-gonadotropes, et seraient un facteur favorisant de maladie surrénalienne chez le furet. Ainsi, le fait de garder des furets à l'intérieur serait associé à des photopériodes augmentées (avec l'éclairage artificiel) et pourrait contribuer à la pathogénie de la maladie.

Chez le furet mature, les niveaux de LH peuvent être régulés par des stimulations photopériodiques. Chez le furet stérilisé ayant une tumeur corticosurrénalienne, les stéroïdes sexuels plasmatiques sont à un niveau plus élevé durant la saison de reproduction, quand les journées augmentent la sécrétion de LH par l'hypophyse (Bielinska *et al.*, 2009). De plus, Jallageas et Mas expliquent que le taux de GnRH sécrété par l'hypothalamus augmenterait durant la recrudescence sexuelle automnale et après des jours à lumière restreinte, des variations saisonnières dans la sécrétion de LH par l'hypophyse ayant été démontrées (Jallageas et Mas, 1996).

Chez les Visons la testostérone modulerait les effets de la mélatonine sur l'activité de l'axe hypothalamo-hypophysaire. Jallageas et Mas ont effectué une étude sur 22 visons mâles adultes élevés en conditions naturelles en France, tous ceux de deux ans étant exposés à des jours longs (vingt heures de lumière par jour) en mai, puis divisés en deux groupes, un groupe étant exposé à des jours longs puis ce groupe a été divisé en deux groupes: certains animaux étant castrés (groupe Rest LD ) les autres restant intacts (Groupe intact LD).

Un deuxième groupe étant exposé à des jours courts (quatre heures de lumière par jour et 20h de nuit), des furets ont été stérilisés au début de la croissance gonadique (Increase SD) et les autres intacts ont été étudiés pendant la phase de croissance maximale (Intact SD). Pour suivre les sécrétions pulsatiles de LH des échantillons sanguins ont été prélevés à l'aide d'un cathéter.

Comme on peut le voir sur la Figure 40, dans cette étude, les effets stimulateurs des jours courts sur l'activité gonadique étaient évidents, aussi bien au niveau du volume testiculaire, qu'au niveau de la concentration en testostérone, la corrélation entre ces deux paramètres étant significativement positive.

Figure 37: Volume testiculaire et taux de testostérone

Volume testiculaire (a) et concentration plasmatique en testostérone (b) de furets dans l'expérience de Jallageas et Mas

Légende :

Testes volume = volume testiculaire

Before castration = avant castration

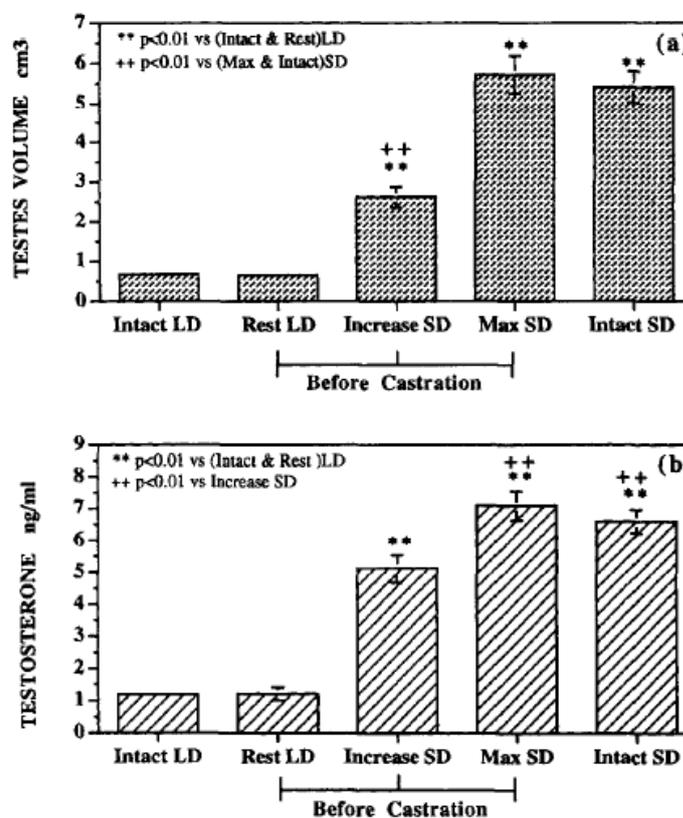
Rest LD= animaux castrés

Intact LD = animaux non castrés

Increase SD = animaux stérilisés au début de la croissance gonadique

Intact SD = animaux intacts étudiés pendant la phase de croissance gonadique maximale

Tiré de : Jallageas et Mas, 1996



Les effets stimulants des jours courts sur l'activité hypophysaire a été caractérisée chez les furets (Intact SD) par une augmentation de la fréquence des pulsativité de LH, corrélée avec une augmentation de la concentration plasmatique moyenne de LH, sans changement significatif de l'amplitude des pulses de LH.

Dans cette étude, l'effet de la castration différait selon que la gonadectomie a été effectuée durant une période d'inhibition ou de stimulation des gonades par la longueur de l'éclairage journalier. Les castrations faites pendant les jours longs (groupe « Rest LD ») n'ont pas affecté l'activité minimum de l'hypophyse, les auteurs en ont donc conclu que le rétrocontrôle des stéroïdes sexuels en période de jours longs ne supprimait pas la sécrétion de LH, qui semblerait être inhibée par la photopériode seule.

Au contraire, les castrations faites pendant les jours courts (groupes « Increase » et « Max SD ») ont mené à une augmentation de la sécrétion de LH supérieure à celle des furets

intacts exposés aux jours courts ( groupe « Intact SD »). Ces données suggèreraient que le rétrocontrôle opéré par les stéroïdes sexuels diminuerait l'amplitude des pulses de LH mais pas leur fréquence. Les auteurs ajoutent que ces résultats croisés avec d'autres études suggèrent que l'influence des gonades sur l'axe hypothalamo-hypophysaire du vison pourrait dépendre d'un seuil de réactivité de l'hypophyse à un rétrocontrôle des stéroïdes sexuels, ce seuil étant atteint au moment des jours courts. De tels résultats ont été démontrés chez les femelles par Karsh et al (sur des brebis).

**En conclusion, la photopériode agirait sur la régulation de la sécrétion de LH, le mécanisme exact n'étant pas encore connu (Jallageas et Mas, 1996).**

#### **4.5. Molécules signal et protéines impliquées dans la régulation des cycles cellulaires dans les tumeurs corticosurréaliennes induites par gonadectomie**

De nombreuses molécules « signal » et protéines sont impliquées dans la régulation des cycles cellulaires au niveau des tumeurs corticosurréaliennes induites par gonadectomie (voir Tableau 8). Nous nous pencherons sur le rôle de l'hormone lutéinisante (LH), de la prolactine, de facteurs produits par les glandes surréaliennes tumorales comme l'activine, l'inhibine, ou l'hormone anti-Müllerienne (AMH), de facteurs de transcription comme GATA, SF-1 et DAX-1, mais aussi sur l'importance possible de facteurs génétiques, dans la pathogénie de la maladie surréalienne du furet.

Tableau 9: Molécules signal et protéines impliquées dans la régulation des cycles cellulaires dans les néoplasies corticosurréaliennes induites pas gonadectomie

<b>Molécules signal et protéines impliquées dans la régulation des cycles cellulaires dans les néoplasies corticosurréaliennes induites par gonadectomie</b>
<b>Facteurs endocrines et paracrines</b>
LH Prolactine Activines Inhibines MIS Wnts Stéroïdes sexuels
<b>Facteurs de transcription</b>
GATA-4 and -6 SF-1 FOG-2 DAX-1 CBP C/EBPb SMADs ER $\alpha$
<b>Protéines régulatrices de cycles cellulaires</b>
Cycline D2 p27Kip1 p21Cip1

Selon : Bielinska et al., 2006

#### 4.5.1. L'hormone lutéinisante

L'hormone lutéinisante LH est une hormone glycoprotéique dimérique composée d'une sous unité gonadotrope et d'une sous unité spécifique à cette hormone : la sous-unité  $\beta$ . L'hormone LH est sécrétée de façon pulsatile par l'hypophyse en réponse à une sécrétion pulsatile de GnRH. La LH se lie à un récepteur à LH (LHR) et par différents mécanismes a pour effet d'augmenter la production de stéroïdes sexuels, qui ont un rétrocontrôle négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire et diminuent en retour la sécrétion de LH (voir Figure 41) (Bielinska *et al.*, 2006).

Des niveaux élevés d'hormone lutéinisante (LH) semblent être impliqués dans la pathologie de la mise en place de la maladie surrénalienne, mais les événements moléculaires mis en jeu dans cette tumorigénèse demeurent peu caractérisés (Bielinska *et al.*, 2006 ; Peterson *et al.*, 2003 ; Wagner *et al.*, 2005).

Diverses études faites depuis une dizaine d'années ont clairement montré la présence de récepteurs à LH/hCG au niveau du cortex surrénalien humain normal et tumoral aussi bien dans le tissu adulte que fœtal (Carlson, 2007). Chez l'Homme, une réponse hormonale surrénalienne à LH ou hCG aurait souvent été associée à l'expression de récepteurs surrénaliens aberrants comme des récepteurs à sérotonine ou polypeptide inhibiteur gastrique, suggérant la possibilité d'altérations des facteurs de transcription régulant différents gènes de récepteurs (Carlson, 2007).

De récentes études ont apporté des preuves par hybridation *in situ* et immuno-histochimie que des récepteurs à LH/hCG étaient impliqués dans des cas de syndrome de Cushing dus à une hyperplasie macronodulaire et dans des carcinomes corticosurréniens associés à la grossesse chez l'Homme (Carlson, 2007).

La gonadectomie perturbe le rétrocontrôle négatif de l'axe hypothalamo-hypophysaire et mène à une augmentation d'hormones gonadotropes dans la pars distalis de l'adénohypophyse et à des taux chroniquement élevés de LH plasmatique (Bielinska *et al.*, 2006 ; Ramer *et al.*, 2006).

Des études pharmacologiques et génétiques chez les souris soutiennent le fait que la LH aurait un rôle central dans la mise en place des tumeurs corticosurrénaliennes, suite à une gonadectomie.

L'élévation chronique du taux de gonadotropines serait un pré-requis au développement de tumeurs dans les trois modèles murins utilisés (Bielinska *et al.*, 2006).

Pour que LH ait un effet direct sur ces cellules, il faut qu'il se lie à un récepteur présent sur la cellule. En temps normal, le LHR est exprimé sur les cellules thécales de l'ovaire, la granulosa et les cellules lutéales et au niveau des cellules de Leydig. Des études menées sur les souris ont montré que des niveaux élevés de LH induits par ovariectomie ou par surexpression transgénique de LH, menaient à une expression ectopique de LHR au niveau de la glande surrénale, ceci étant suivi par une tumorigénèse ou une hyperplasie corticosurrénalienne (Bielinska *et al.*, 2003 ; Rahman *et al.*, 2004 ; Bernichtein *et al.*, 2008a ; Apaja *et al.*, 2005). Une élévation sérique chronique de LH, corrélée à une augmentation de la prolactine, induirait l'expression de récepteurs fonctionnels à LH au niveau de cortex surrénaliens de souris (Kero *et al.*, 2000). Une autre théorie existe, selon laquelle une libération initiale et non persistante de LH après la castration suffirait pour la progression de la maladie surrénalienne (Wagner *et al.*, 2009).

Carlson rapporte qu'une addition de LH ou de hCG *in vitro* à des cultures de cellules provenant d'adénomes ou de carcinomes surrénaliens humains mènerait à une augmentation

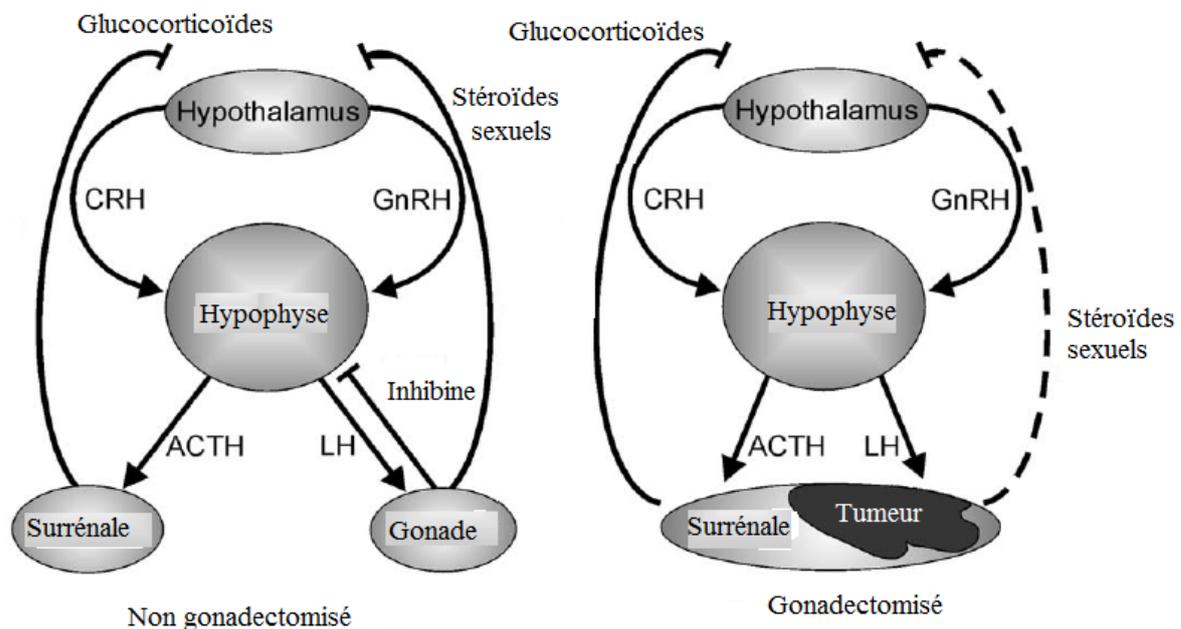
de la production d'AMP cyclique, et à une sécrétion de cortisol et d'androgènes. Des études de Millington et al en 1976 ont été les premières montrant un effet direct de la stimulation de la fonction corticosurrénalienne par LH ou hCG (Carlson, 2007).

Figure 38 : Sécrétions hormonales et schémas de régulation de l'axe hypothalamo-hypophysaire chez des animaux ayant ou non subi une gonadectomie

Légende :

→ et ⇐ indiquent respectivement une régulation positive et négative. Après la gonadectomie, le rétrocontrôle négatif exercé par les stéroïdes sexuels sur l'hypothalamus est réduit et est indiqué par des lignes pointillées.

Selon Bielinska et al., 2006



Dans une de leurs études (2005) sur les concentrations plasmatiques hormonales de souris, Bielinska et al., ont constaté que :

- concernant l'hormone lutéinisante LH, les souris gonadectomisées NU/J (lignée sensible) étaient comparables à celles des souris DBA/2J ou FVB/N (lignées non sensibles). En effet, ces lignées murines voient significativement ( $p < 0,05$ ) augmenter leur concentration plasmatique de LH chez les souris gonadectomisées deux mois après les gonadectomies. La présence de récepteurs à LH (LHR) au niveau des cellules B leur permettrait de répondre à cette augmentation de LH (Bielinska et al., 2005).

- chez les souris gonadectomisées NU/J, la concentration plasmatique en œstradiol augmente elle aussi après gonadectomie. En effet, leur taux d'œstradiol était significativement plus élevé (taux multiplié par plus de six) que celui des souris témoins ( $p < 0,05$ ).

Ces deux résultats confirment la capacité des cellules néoplasiques du cortex surrénalien à devenir une source d'hormones gonadiques après gonadectomie (Bielinska et al., 2005).

- Le taux plasmatique de corticostérone était significativement plus élevée chez les souris témoins que chez les souris gonadectomisées, suggérant une capacité réduite à produire des glucocorticoïdes, et supposant le remplacement d'une partie importante du cortex surrénalien

par des cellules néoplasiques sans compensation de croissance ou augmentation d'activité du tissu néoplasique restant.

**Cela suggère aussi, couplé au fait qu'il n'y ait pas de LHR au niveau des cellules surrénaliennes rémanentes, que LH ne supplante pas l'ACTH dans la stimulation de la production de glucocorticoïdes au niveau de ces cellules.**

Bielinska et al., ont ensuite greffé des cellules produisant hCG, analogue de LH chez des souris intactes et gonadectomisées. Les souris intactes traitées à hCG ont développé des tumeurs corticosurréaliennes exprimant les mêmes marqueurs que les tumeurs induites par gonadectomie, mais ces souris exprimaient une capacité de production des stéroïdes sexuels réduite par rapport aux souris gonadectomisées.

**Cela suggère que l'élévation chronique de gonadotropines serait le principal signal responsable du processus néoplasique au niveau des surrénales.**

L'hormone hCG stimule la production gonadique d'œstradiol et de testostérone, et un taux élevé de ces hormones gonadiques pourrait inhiber directement la stéroïdogénèse dans les cellules néoplasiques corticosurréaliennes. Il a été démontré que les stéroïdes sexuels inhibaient directement P450c17 (Johnson et Crane, 1995 ; Bielinska *et al.*, 2005).

Les effets de la gonadectomie et de hCG ne seraient cependant pas cumulatifs après trois à sept semaines de traitement, hCG atténuant même les effets de la gonadectomie sur la production surrénalienne de stéroïdes sexuels (Bielinska *et al.*, 2005).

Après ovariectomie, les souris DBA/2J (lignée sensible) connaissent des taux sériques élevés de LH, avec un développement de tumeurs corticosurréaliennes qui surexpriment des LHR et le facteur de transcription GATA-4. De plus des études menées sur les souris NU/J (lignée sensible), une lignée capable de développer des tumeurs corticosurréaliennes induites par gonadectomie, une élévation chronique de LH peut induire une tumorigénèse corticosurrénalienne en absence de gonadectomie (voir Figure 42) (Bielinska *et al.*, 2006).

Figure 39 : Concentrations hormonales après gonadectomie chez des souris

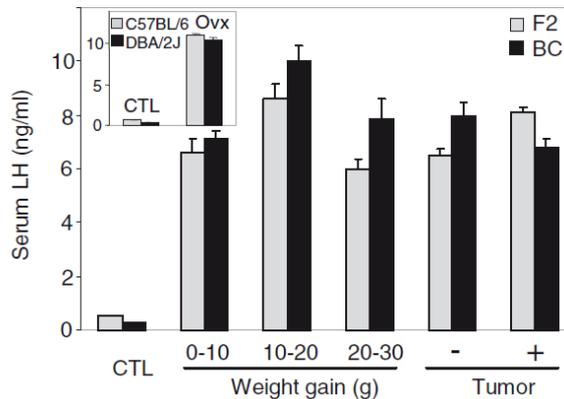
Concentrations hormonales six mois après une gonadectomie (ovx) pré-pubère chez des souris F2 (croisement F1xC57BL/6J) et BC (croisement F1xF1) (F1 étant issue du croisement C57BL/6J x DBA/2J).

Comme on peut le voir, la gonadectomie induit des taux élevés de LH chez les souris F2 (8-10 animaux par groupe) et BC (8-10 animaux par groupe) ceci sans relation avec leur prise de poids (WG) et leur stade tumoral.

Légende :

CTL = Souris témoins

Tiré de : Bernichtein et al., 2008b



Bernichtein et al., ont développé un nouveau modèle de néoplasie corticosurrénalienne pour évaluer la contribution de la gonadectomie et de l'élévation de gonadotropines dans l'induction et dans la progression de la néoplasie corticosurrénalienne en augmentant les taux sériques de gonadotropines et en développant des tumeurs sécrétant des stéroïdes sexuels au niveau du cortex surrénalien, des changements néoplasiques survenant aussi dans des souris nues intactes après une stimulation chronique aux gonadotropines.. Dans ce modèle, ils ont utilisé des souris NU/J ayant une mutation perte de fonction récessive au niveau du gène *Foxn1*, associée à une athymie. Des études sur des souris thymectomisée démontrent une déficience dans les fonctions de reproduction, incluant une fertilité en baisse et une diminution dans la production de stéroïdes sexuels (Rebar et al., 1981 ; Rebar et al., 1982 ; Bielinska et al., 2005).

Les souris femelles NU/J (lignée sensible) développaient des cellules tumorales dans la région de la capsule surrénalienne s'étendant par la suite dans le cortex quelques semaines après leur gonadectomie. En deux mois, des régions de cellules néoplasiques contenant des cellules A fusiformes et des cellules B riches en lipides étaient évidentes dans les surrénales, et en quatre mois les tumeurs occupaient une large partie du cortex surrénalien. De plus, on peut constater une infiltration de mastocytes dans le tissu néoplasique, ce qui est un phénomène connu pour accompagner la tumorigénèse induite par gonadectomie dans les lignées de souris sensibles (Bielinska et al., 2005). Ces changements morphologiques étaient identiques à ceux se produisant chez les souris DBA/2J gonadectomisées, dans des intervalles de temps comparables (Bielinska et al., 2005).

L'administration de GnRH augmente les taux plasmatiques de stéroïdes sexuels chez les furets ayant une tumeur corticosurrénalienne, tandis que l'inhibition de la sécrétion de gonadotropes avec l'utilisation de molécules comme l'acétate de leuprolide ou de désloréline

peut diminuer la production de stéroïdes sexuels par la tumeur et améliorer temporairement les signes cliniques de maladie surrénalienne (Bielinska *et al.*, 2006). De plus, une hypophysectomie supprime la tumorigénèse corticosurrénalienne induite par gonadectomie chez les lignées de souris consanguines (Bielinska *et al.*, 2006). Cette tumorigénèse est aussi prévenue par l'introduction d'une mutation *hpg* (GnRH null) chez les souris transgéniques pour l'inhibine  $\alpha$  (inhibin- $\alpha$  promoter-SV40 T-antigen transgenic mice) ou chez les souris KO pour le gène de l'inhibine  $\alpha$  (inhibin- $\alpha$  null mice) (Bielinska *et al.*, 2006).

Des niveaux peu élevés d'ARNm et de protéines de LHR peuvent être détectés au niveau du cortex surrénalien de furets intacts mais ces récepteurs semblent être non-fonctionnels. Il est important de noter que la tumorigénèse corticosurrénalienne chez les souris et les furets est accompagnée par une élévation très importante et soutenue du niveau de protéines et ARNm de LHR (Bielinska *et al.*, 2006 ; Bernichtein *et al.*, 2008a). En effet, Bernichtein et ses confrères ont montré par RT-PCR que des glandes de souris gonadectomisées exprimaient clairement de l'ARNm de LHR au niveau de leurs surrénales, cette expression augmentant clairement trois mois après gonadectomie chez des souris F1 (issues du croisement DBA/2J x C57BL/6J) et DBA2J (sensibles) et dans les lignées non sensibles comme C57BL/6J, alors que les souris non gonadectomisées n'exprimaient pas de niveau détectable de LHR au niveau de leurs surrénales (Bernichtein *et al.*, 2008a ; Bernichtein *et al.*, 2009). Cette expression de LHR a été confirmée par immuno-histochimie (voir Figure 44). La région corticale des souris C57BL/6J (lignée non sensible) gonadectomisées était clairement colorée, indiquant que les glandes surrénales non tumorales exprimaient elles-aussi des récepteurs LHR ectopiques après gonadectomie (Bernichtein *et al.*, 2008a ; Bernichtein *et al.*, 2009).

Schoemaker et al (Schoemaker *et al.*, 2002) ont étudié le rôle de la LH dans la pathogénèse de la maladie surrénalienne du furet : ils ont pour cela stimulé des furets castrés, avec de la GnRH. L'augmentation de la concentration en androstènedione plasmatique après injection de GnRH chez les deux furets atteints de maladie surrénalienne était significative par rapport à la normale. Ils ont pu observer la présence de récepteurs à LH au niveau de surrénales de furets malades (voir Figure 43). Les cellules thécales des ovaires et les cellules de Leydig des furets témoins étaient positives aux LHR. La concentration plasmatique basale en androstènedione et 17-OH progestérone des furets atteints de maladie surrénalienne était supérieure à celle des furets sains, et augmentait significativement 30 min après injection de GnRH, puis revenait à une concentration basale en 60-90 min (Schoemaker *et al.*, 2002b). Cependant, la concentration en cortisol restait inchangée chez furets sains et malades après stimulation à la GnRH. Le cortex surrénalien de jeunes furets non stérilisés était positif aux récepteurs à LH, mais l'anticorps anti-LH utilisé dans cette étude réagissant avec les récepteurs de LH entiers comme avec ses fragments protéiques, on ne peut pas exclure que ce ne soit juste des fragments non fonctionnels (Schoemaker *et al.*, 2002b).

La stimulation avec LH et GnRH des furets sains n'entraînait aucune réponse, ce qui amène à penser que la protéine LH-R trouvée chez les furets sains ne serait pas fonctionnelle. Selon Peterson et Rosenthal, il n'y aurait pas d'augmentation de concentration plasmatique en androstènedione chez environ 25% des furets atteints d'hyperadrénocorticisme (Schoemaker *et al.*, 2002).

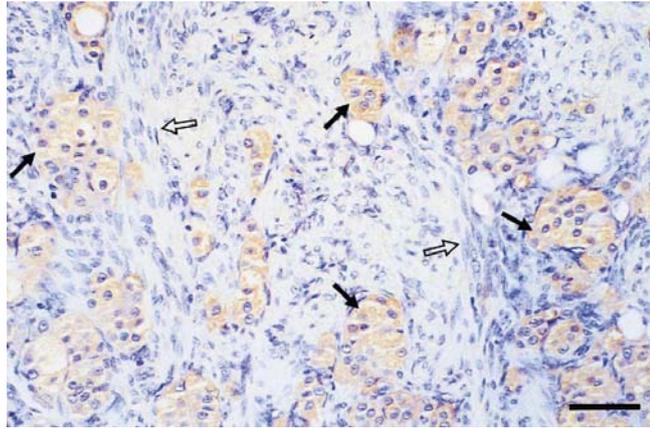
Figure 40: Adénome surrénalien d'un furet stérilisé chirurgicalement

*Réaction immuno-histochimique mettant en évidence les LH-R.*

*Beaucoup de cellules sont positives aux LH-R (cellules brunes), les flèches blanches désignant les cellules fusiformes*

*Barre = 25 nm*

*Tiré de: Schoemaker et al., 2002b*



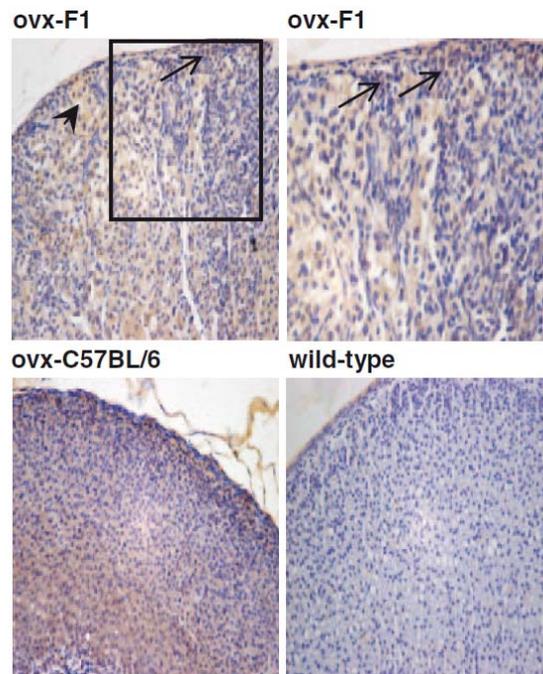
**Il semble évident que l'expression de récepteur à LH ne soit pas la cause directe de la tumorigénération et que des différences génétiques sous-jacentes influencent de manière différente les événements se produisant en deçà de l'activation des LHR menant à l'induction d'un phénotype néoplasique (Bernichtein et al., 2009).**

Figure 41 : Coupes de surrénales de souris avec suivi de l'expression de LHR

Réaction immuno-histochimique en utilisant des anticorps anti-LHR poly-clonaux se colorant par immunoperoxidase chez les souris ovariectomisées (ovx) F1 et C47BL/6J, six mois après leur opération.

La région tumorale est colorée chez les souris F1 ovariectomisées au niveau des cellules A (flèches) et B (têtes de flèche) comme on peut le voir dans les deux images du haut.

Tiré de : Bernichtein et al., 2008b



Ceci diffère de la situation qui existe dans la plupart des cellules sensibles à LH, où une exposition chronique à de la LH résulte en une désensibilisation ou une baisse du nombre de LHR. Les mécanismes responsables de ce paradoxe ne sont pas encore connus (Bielinska et al., 2006). Il existe des hypothèses non prouvées selon lesquelles les régions sous-capsulaire ou juxta-médullaires contiennent de rares cellules qui expriment des LHR fonctionnels et se transforment ou prolifèrent en réponse à une stimulation gonadotrope chronique. Une autre possibilité consiste en la formation de tumeur corticosurrénaliennne, accompagnée d'une augmentation de l'expression de GATA-4, qui activerait la transcription de LHR selon une boucle d'auto amplification (Bielinska et al., 2006).

De façon concomitante à l'augmentation de LHR dans les tumeurs corticosurrénaliennne, le nombre de récepteurs à ACTH, les MC2R, diminue. Un changement accompagne la tumorigénèse corticosurrénaliennne, le tissu néoplasique ne répond plus à ACTH mais répond à LH (Bielinska et al., 2006). Le récepteur MC2R se lie à l'ACTH et promeut la prolifération et la différenciation des cellules corticosurrénaliennnes (Bielinska et al., 2005).

**Pour conclure, une élévation chronique de gonadotropines serait le principal signal responsable du processus néoplasique au niveau des surrénales en induisant la présence de récepteurs à LH (LHR) fonctionnels au niveau des surrénales. Ceci diffère de la situation qui existe dans la plupart des cellules sensibles à LH, où une exposition chronique à de la LH résulte en une désensibilisation ou une baisse du nombre de**

récepteurs à LH. Les mécanismes responsables de ce paradoxe ne sont pas encore connus.

Cependant, des récepteurs à LH apparemment non fonctionnels peuvent être détectés au niveau du cortex surrénalien de furets intacts et sains. La région corticale surrénalienne non tumorale de souris C57BL/6J (lignée non sensible) gonadectomisées exprime elle aussi des récepteurs LHR. Ainsi, l'expression de récepteur à LH ne serait pas la cause directe de la tumorigénèse surrénalienne induite par gonadectomie et des différences génétiques sous-jacentes influenceraient de manière différente les événements se produisant en deçà de l'activation des LHR menant à l'induction d'un phénotype néoplasique. Il existe des hypothèses non prouvées selon lesquelles les régions sous-capsulaires ou juxta-médullaires contiendraient de rares cellules exprimant des LHR fonctionnels et se transformant ou proliférant en réponse à une stimulation gonadotrope chronique. Une autre possibilité consiste en la formation de tumeur corticosurrénalienne, accompagnée d'une augmentation de l'expression de GATA-4, qui activerait la transcription de LHR selon une boucle d'auto amplification.

#### *4.5.2. La prolactine, autre hormone hypophysaire*

Une autre hormone hypophysaire, la prolactine, peut affecter la stéroïdogénèse des gonades et des cellules corticosurréaliennes de quelques espèces en modulant l'expression de LHR.

Chez les souris bLH $\beta$ -CTP, la prolactine semble augmenter l'expression de LHR dans les cellules corticosurréaliennes normales, menant à l'expansion de la zone fasciculée et à un excès de production de corticostérone, qui est à son tour associé à un dépôt de graisse rétro-péritonéale et une augmentation du taux de leptine sérique.

La prolactine peut potentialiser la production d'androgènes induite par LH dans les cellules ovariennes interstitielles (Bielinska *et al.*, 2006). Comme la LH, la sécrétion de prolactine chez le furet est contrôlée par un complexe hormonal et des signaux physiques comme la photopériode, et est perturbée par la gonadectomie (Bielinska *et al.*, 2006). **Après stérilisation chirurgicale, 30 à 40% des cellules adénohypophysaires de furets montrent une immuno- réactivité positive à la prolactine** (Bielinska *et al.*, 2006). Chez des furets femelles, il a été montré que la prolactine était un médiateur de l'induction de la puberté avec l'allongement des jours. Il n'y a pas de lien direct prouvé entre les changements induits par la gonadectomie concernant la prolactine et la formation des tumeurs corticosurréaliennes chez les furets (Bielinska *et al.*, 2006).

#### *4.5.3. Facteurs produits par les glandes surrénales et le tissu corticosurrénalien tumoral*

##### **L'activine**

L'activine et l'inhibine sont des glycoprotéines dimériques appartenant à la superfamille des TGF $\beta$ . Elles fonctionnent comme des hormones endocrines ou des facteurs paracrines qui agissent au niveau de l'hypophyse, des gonades et d'autres tissus, dont les surrénales. L'activine utilise le chemin de signalisation de TGF $\beta$ , ce qui inclut les récepteurs kinases transmembranaires et leurs médiateurs, les protéines Smad. Une variété de cellules gonadiques et extra-gonadiques produisent de l'activine (Bielinska *et al.*, 2006).

Ces molécules « signal » peuvent avoir divers effets sur la croissance et la fonction de cellules stéroïdogéniques. Leur activité dépend du type de cellule, du stade de développement, des récepteurs présents et du milieu hormonal (Bielinska *et al.*, 2006).

L'activine promeut la différenciation des cellules de la granulosa, mais dans les cellules thécales elle inhibe la production d'androgènes dépendante de LH.

Chez la plupart des mammifères, le niveau sérique d'activine ne chute pas significativement après gonadectomie, suggérant que le niveau sérique reflète principalement la sécrétion extra gonadique.

Néanmoins, après gonadectomie, les concentrations locales d'activine changent (Bielinska *et al.*, 2006).

Les récepteurs à activine sont exprimés dans les surrénales murines et il a été montré que l'activine inhibait la croissance et la production de stéroïdes par les cellules corticosurréaliennes et augmentait l'apoptose des cellules de la zone X. L'activine sécrétée par les tumeurs surréaliennes des souris déficientes en inhibine  $\alpha$ , après gonadectomie, inhibe la formation de carcinomes dans la glande controlatérale (Bielinska *et al.*, 2006).

Chez des souris intactes déficientes en inhibine, un supresseur de tumeur caractéristique, on voit le développement de tumeurs gonadiques qui produisent de hauts niveaux d'activine.

**L'activine exerce un fort effet anti-apoptotique sur le cortex surrénalien.**

Quand les souris sont gonadectomisées, l'abolition simultanée de la production d'activine ovarienne et l'élévation des taux de LH, ajoutée au fait qu'il n'y ait pas d'effet anti-proliférateur de l'inhibine mène à une réponse de croissance pathologique de la corticosurrénale. Les tumeurs des souris Inha/Tag surviendraient apparemment avec l'effet combiné de Tag (un oncogène viral activant p53) et des hauts niveaux de LH post-gonadectomie. Les souris Inha/Tag étaient au départ élevées pour produire des tumeurs gonadiques mais il a été constaté qu'elles étaient plutôt sujettes à développer des tumeurs corticosurréaliennes quand elles avaient subi des gonadectomies pré-pubères. Quand une gonadectomie fonctionnelle a été induite chez ces souris par un traitement aux antagonistes de la GnRH ou en les croisant avec des souris hypogonadotropiques hpg (souris ayant une mutation inactivant le gène de la GnRH), aucune tumeur gonadique ni surrénalienne n'est apparue. Cette découverte serait en faveur de l'hypothèse d'un développement tumoral lié à une sécrétion de gonadotropines élevée, pouvant avoir dérégulé l'expression de LHR (Bernichtein *et al.*, 2008a).

### Les inhibines

Les inhibines sont principalement produites par les cellules somatiques gonadiques, c'est pourquoi une gonadectomie entraîne une chute rapide et importante des taux d'inhibine circulants. L'inhibine n'a pas d'effet direct sur la stéroïdogénèse ou la survie cellulaire mais peut antagoniser le signal de l'activine par compétition de ses récepteurs. La synthèse des inhibines limite aussi la disponibilité des sous unités  $\beta$ -A et  $\beta$ -B pour la synthèse d'activine (Bielinska *et al.*, 2006).

Bien que des études sur les souris inhibine- $\alpha$  déficientes aient montré que ce gène pouvait fonctionner comme un gène suppresseur de tumeur, l'inactivation de son locus n'est pas essentielle pour la tumorigénèse corticosurrénalienne. En effet, une forte expression de l'inhibine- $\alpha$  a été constatée dans les tumeurs corticosurréaliennes de souris, furets et humains (Bielinska *et al.*, 2006).

Bernichtein rapporte que des études menées sur des souris génétiquement modifiées (par exemple le modèle inhibine alpha KO de Looyenga et Hammer en 2006, ou le modèle inhibine  $\alpha$  / Tag TG de Kananen et al en 1996) qui développaient des tumeurs

corticosurréaliennes après gonadectomie, ont permis de proposer une hypothèse selon laquelle, en plus des taux modifiés d'inhibine ou d'activine, l'élévation de LH induite par la gonadectomie permettrait d'orienter la croissance des cellules corticosurréaliennes vers une réponse pathologique (Bernichtein *et al.*, 2009).

### **L' hormone anti-Müllerienne ou Müllerian inhibiting substance: AMH ou MIS**

L'hormone anti-Müllerienne (AMH) est un membre connu de la superfamille des TGF- $\beta$ , n'agissant qu'au niveau des organes reproducteurs. Cette substance est produite au niveau des cellules somatiques gonadiques mais pas par les cellules corticosurréaliennes normales. Dans les testicules elle est produite au niveau des cellules de Sertoli, tandis que dans les ovaires c'est au niveau des cellules de la granulosa (Bielinska *et al.*, 2006). L'hormone anti-Müllerienne se lie aux récepteurs MIS de type 2 : MIS2R, ce qui engendre un signal *via* les protéines Smad, de façon analogue à la voie de signalisation de l'activine. L'AMH diminue l'expression de P450c17 dans les cellules de Leydig et de l'aromatase dans les cellules de la granulosa (Bielinska *et al.*, 2006).

L'hormone AMH ou MIS, se liant à MIS2R, est exprimée dans les cellules gonadiques mâles et femelles et peut être utilisée comme un marqueur tumoral pour les tumeurs dérivées de la corde sexuelle et les carcinomes dérivés de l'épithélium germinale (Rey *et al.*, 2000 ; Bielinska *et al.*, 2005) Le gène de l'AMH est une cible connue de l'activation transcriptionnelle de GATA-4 dans les gonades (Tevosian *et al.*, 2002 ; Tremblay et Viger, 2001). L'expression du gène de l'AMH requiert l'action concomitante de facteurs de transcriptions comme Sox9, SF-1, WT-1, GATA-4, et Dax-1. Le facteur SF-1 contribue à l'expression du gène de l'AMH en coopérant avec des facteurs comme GATA-4 et WT-1 (Tremblay et Viger, 2001).

Une immuno-réactivité positive à l'AMH a été observée dans des tumeurs corticosurréaliennes de furets, ce qui suggère un rôle de cette substance dans les néoplasies corticosurréaliennes induites par gonadectomie.

L'AMH a été détectée dans les cellules B et des sous-ensembles des cellules A. En effet, ce type de tumeurs, chez des souris, une immuno-réactivité à l'AMH a été observée dans les cellules A et B, tandis que les témoins de transcription de MIS2R n'ont été constatés que dans les cellules A (Bielinska *et al.*, 2006) .

Il a donc été émise une hypothèse selon laquelle l'AMH agirait comme un facteur autocrine ou paracrine, et pourrait inhiber la prolifération ou la stéroïdogénèse dans les cellules A, ou faciliter leur migration centripète, ou les deux (Bielinska *et al.*, 2006)

**Cela permet de penser que l'AMH serait produite par les cellules B et agirait comme un facteur paracrine sur les cellules A ou vice versa, influençant peut-être la conversion phénotypique des cellules surréaliennes en cellules gonadiques. L'AMH pourrait inhiber la prolifération ou la stéroïdogénèse dans les cellules A ou faciliter leur migration centripète. L'expression de l'AMH aurait été démontrée au niveau des tumeurs gonadiques et des études génétiques suggéreraient que l'inhibine- $\alpha$  et l'AMH agiraient en synergie sur la tumorigénèse des gonades, mais le rôle de l'AMH dans les tumeurs corticosurréaliennes n'a pas encore été établi (Bielinska *et al.*, 2006 ; Bielinska *et al.*, 2005).**

### **La protéine Wnt**

La protéine Wnt a été impliquée dans une variété de développements physiologiques et pathologiques, ceci incluant les néoplasies.

La protéine Wnt-2b est exprimée dans les cellules sous-capsulaires de la surrénales et Wnt-4 dans la zone glomérulée. Une mutation de Wnt-4 mène à un développement aberrant du cortex surrénalien et des gonades. Les souris déficientes en Wnt-4 ont une expression diminuée de P450ald0 dans les surrénales et une expression ectopique du marqueur surrénalien spécifique P450c11 dans les gonades.

La protéine Wnt agirait en stabilisant la  $\beta$ -caténine qui active l'expression de gènes via des facteurs de transcriptions variés. L'expression de  $\beta$ -caténine a été constatée dans les noyaux des cellules B de souris NU/J gonadectomisées, ceci suggérant une implication possible de Wnt dans la tumorigénèse corticosurrénalienne.

La  $\beta$ -caténine agit en synergie avec SF-1 dans l'activation transcriptionnelle de l'inhibine  $\alpha$  dans les cellules stéroïdogéniques, ce qui pourrait expliquer son expression importante dans les cellules de type B (Bielinska *et al.*, 2006).

### **Le cytochrome b5**

Le cytochrome b5 est un régulateur allostérique qui augmente l'activité 17-20-lyase du cytochrome P450c17. L'immunoréactivité du cytochrome b5 est évidente dans 96% des adénomes ou carcinomes corticosurrénaux des furets présentant des signes de production ectopique de stéroïdes, dans une étude de Wagner *et al.*, . Les cellules corticosurrénales normales, de furets castrés ou non, ne présentent pas de cytochrome b5, ce qui pourrait être lié à la faible production d'androgènes au niveau surrénalien chez les furets sains. Une immunoréactivité négligeable au cytochrome b5 a été constatée dans les cellules fusiformes présentes au niveau des tumeurs corticosurrénales. Sur la Figure 45, on peut voir que les cellules saines présentes dans la zone réticulée n'expriment ni le cytochrome b5 ni GATA-4, tandis que les cellules carcinomateuses (acc) expriment ces deux marqueurs de différenciation gonadique.

Chez les primates, comme chez les furets, l'expression de cytochrome b5 dans les tissus corticosurrénaux sains et tumoraux est corrélée à une capacité à produire des androgènes. La présence de l'expression de cytochrome b5 dans le cortex surrénalien adulte de l'Homme coïncide avec une augmentation d'androgènes circulants durant la période adrénarchie.

L'expression du cytochrome b5 est augmentée dans les tumeurs corticosurrénales de furet induites par gonadectomie, et en fait un marqueur du potentiel de synthèse d'androgènes dans ces tumeurs.

Les cellules exprimant le cytochrome b5 sont de taille importante, riches en lipide et clairsemées à travers le tissu tumoral corticosurrénalien. La présence de cytochrome b5 ne diffère pas entre les cellules malignes et bénignes.

**Le cytochrome b5 prendrait part à l'orientation des cellules tumorales corticosurrénales vers une production de stéroïdes sexuels (Wagner *et al.*, 2008).**

Figure 42: Carcinome corticosurrénalien de furet mettant en évidence le cytochrome b5

2a : Coloration HE

2b : coloration mettant en évidence le cytochrome b

2c : coloration mettant en évidence GATA-4

Barre = 100  $\mu$ m

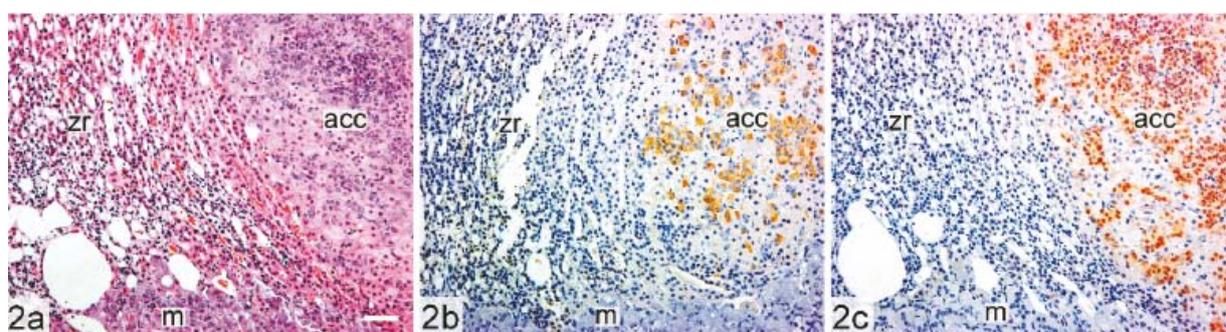
Légende :

ZR= zone réticulée

m= médulla

acc= carcinome corticosurrénalien

Tiré de: Wagner et al., 2008



### Les stéroïdes sexuels

Dans les modèles murins de tumeur corticosurrénalienne induite par gonadectomie, l'administration de stéroïdes sexuels peut inhiber la formation de tumeur ou la production ectopique de stéroïdes sexuels.

En plus de diminuer le nombre de gonadotrophes hypophysaires, et la sécrétion de gonadotropines hypophysaires, ils peuvent directement inhiber la production de stéroïdes par les cellules corticosurréaliennes normales ou néoplasiques.

Des études menées sur les souris NU/J (lignée sensible) subissant des niveaux élevés de LH/hCG et de testostérone ont montré que des cellules néoplasiques s'accumulaient dans le cortex surrénalien mais que ces cellules n'exprimaient qu'un niveau faible de P450c17, suggérant qu'elles n'avaient qu'une faible capacité de production de stéroïdes sexuels.

**L'expression de ER $\alpha$  dans les tumeurs corticosurréaliennes des furets et des souris est en faveur de l'hypothèse selon laquelle les cellules néoplasiques pourraient répondre directement aux œstrogènes** (voir Figure 46). ER- $\alpha$  est surtout observé au niveau des noyaux des cellules B (Bielinska et al., 2005 ; Bielinska et al., 2006).

Figure 43: Carcinome corticosurrénalien exprimant ER $\alpha$

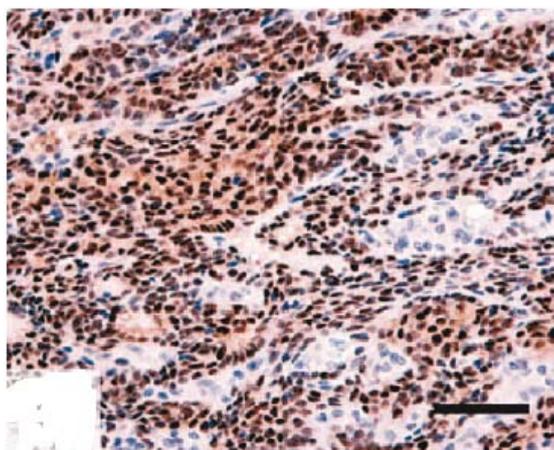
*Carcinome corticosurrénalien d'un furet stérilisé chirurgicalement, exprimant des récepteurs aux œstrogènes ER $\alpha$  dans le noyau des cellules tumorales*

*Méthode de peroxydase complexe avidine-biotine mettant en évidence ER $\alpha$*

*Les cellules positives à ER $\alpha$  apparaissent brunes*

*Barre = 250  $\mu$ m*

*Tiré de: Bielinska et al., 2006*



#### **4.5.4. Les Facteurs de transcription**

##### *4.5.4.1. Les Facteurs de transcription GATA*

Les facteurs GATA sont un groupe de protéines se liant à l'ADN reconnaissant le motif consensus (A/T)GATA(A/G). Les facteurs GATA-4 et GATA-6 appartiennent à la famille des facteurs de transcription à doigt de zinc GATA, régulant l'expression génique, la différenciation et la prolifération cellulaire dans une variété de tissus, mais aussi l'apoptose dans de nombreux tissus dérivés du mésoderme et de l'ectoderme, dont le cœur, les gonades et le cortex surrénalien. Des mutations supprimant les gènes *Gata*, à l'exception de *Gata5*, sont létales au niveau embryonnaire, soulignant leur rôle clé dans le développement (Kiiveri et al., 1999 ; Parviainen et al., 2007 ; Bielinska et al., 2006).

Bien que les gonades et le cortex surrénalien aient une origine commune, l'expression des facteurs GATA diffère entre ces organes. Le pont uro-génital exprime GATA-4 au niveau de sa partie génitale, et cette expression persiste dans les cellules somatiques gonadiques pendant tout le développement. Au niveau des gonades de souris adulte, l'expression de GATA-4 est plus marquée pendant les périodes de prolifération active, au niveau de la granulosa et des cellules de Sertoli. Le facteur GATA-6 est lui aussi exprimé pendant le développement gonadique et se trouve en quantité supérieure à GATA-4 au niveau des cellules de la thèque et des cellules de Leydig. Dans les ovaires, GATA-4 est exprimé au niveau des cellules de la granulosa des follicules primaires, tandis que GATA-6 se trouve au niveau des cellules folliculaires tardives et des cellules lutéales.

Ces différences spatio-temporelles suggèrent des rôles différents pour chaque facteur (Parviainen et al., 2007 ; Kiiveri et al., 1999). Chez l'homme, la protéine GATA joue un rôle au niveau de plusieurs organes endocrines, incluant la GnRH, l'AMH, l'inhibine  $\alpha$ , et la protéine de régulation stéroïdogénique StAR (Kiiveri et al., 2005 ; Bielinska et al., 2006).

## GATA-4

Le facteur GATA-4 est un membre de la famille GATA, exprimé dans le pont urogénital et dans les cellules somatiques gonadiques fœtales et adultes des mammifères. Ce facteur de transcription et sa cible supposée : le gène P450c17, sont aussi exprimés transitoirement dans les surrénales fœtales de souris mais sont absents du cortex surrénalien des animaux après la naissance.

Dans les cellules stéroïdogéniques de rongeurs, GATA-4 est exprimé pendant les périodes de prolifération active et son expression est stimulée par des hormones gonadotropes exogènes dans des lignées de cellules gonadiques de culture, contrairement à GATA-6 (Kiiveri *et al.*, 1999 ; Bielinska *et al.*, 2006). Les deux facteurs GATA exprimés au niveau des surrénales sont les facteurs GATA-4 et GATA-6. Le facteur GATA-4 est exprimé au niveau des cellules corticosurrénales fœtales de souris en proportion élevée, avec une diminution nette après la naissance. GATA-4 peut aussi être détecté au niveau des surrénales fœtales mais non chez les adultes, chez l'Homme.

Les cellules germinales de Leydig de rat expriment GATA-4 mais pas de LHR ou d'enzyme stéroïdogénique, et sont capables de coloniser, se propager et se différencier quand elles sont transplantées dans des interstitium de rat. Ceci montre l'importance de GATA-4 dans la différenciation des cellules stéroïdogéniques.

Bien qu'il semble que GATA-4 joue un rôle important dans l'ontogénèse des cellules stéroïdogéniques testiculaires au niveau fœtal, ce facteur de transcription n'est pas requis pour la stéroïdogénèse surrénalienne. GATA-4 n'est ainsi pas exprimé dans les surrénales de souris adultes (Bielinska *et al.*, 2007).

GATA-4 n'est pas un facteur essentiel pour la différenciation précoce corticosurrénalienne. Il a cependant été montré qu'il agissait en synergie avec SF-1, facteur important dans le développement et la fonction corticosurrénalienne.

Des expériences de co-transfection ont mis en évidence le fait que GATA-4 pouvait favoriser l'expression de nombreux gènes impliqués dans la fonction de cellules somatiques gonadiques, comme l'AMH, StAR, P450c17, l'aromatase, les sous-unités  $\alpha$  et  $\beta$  de l'inhibine, les LHR, et HSD3 $\beta$ 2 (Bielinska *et al.*, 2007). ainsi que celle de l'inhibine- $\alpha$ , et CYP17. Les gènes de l'Hormone anti-Müllerienne (AMH) et de l'aromatase (CYP19) sont des cibles de GATA-4 et des régulateurs clés spécifiques du développement et de la fonction gonadique (Parviainen *et al.*, 2007).

**Il semblerait que l'expression ectopique de GATA-4 dans la surrénale soit annonciateur de l'apparition de cellules néoplasiques (Peterson *et al.*, 2003).**

Sur la Figure 47 on peut voir que la présence de GATA-4 est évidente dans la région sous-capsulaire des surrénales de souris sensible DBA/2J non gonadectomisées (A et C) mais que ces cellules positives n'envahissent pas le cortex surrénalien. D'autre part, de grandes plages de cellules A fusiformes tumorales GATA-4 positives sont présentes au niveau du cortex surrénalien de souris DBA/2J gonadectomisées (B et D). Ces cellules pénètrent profondément dans la ZF. La présence de cellules GATA-4-positives n'est pas évidente chez les souris intactes ou gonadectomisées non sensibles FVB/N. On peut penser que GATA-4 est un marqueur de cellule tumorale ou potentiellement tumorale et que sa présence au niveau du cortex surrénalien serait soumise à des facteurs génétiques.

Au niveau des surrénales de furets, une immuno-réactivité à GATA-4 peut être observée dans des cellules tumorales. Cela semblerait être corrélé avec le degré d'atypie

cytoplasmique. GATA-4 est particulièrement abondant au niveau des carcinomes et carcinomes myxoïdes corticosurrénaux mais est absent des cellules fusiformes des tumeurs corticosurrénales et sa présence est réduite au niveau des lésions d'hyperplasies simples corticosurrénales (voir Figure 44 à Figure 53) (Peterson *et al.*, 2004).

Dans le modèle murin de tumeur surrénalienne induite par gonadectomie, GATA-4 est exprimé dans les cellules A et B et dans les cellules juxta-médullaires carcinomateuses (voir Figure 52) (Belinska *et al.*, 2003 ; Bielinska *et al.*, 2006).

Il semblerait que les facteurs TGF $\beta$ , Smad3 et GATA-4 agissent selon un processus commun en promouvant la tumorigénèse surrénalienne chez l'Homme. En effet, les signaux TGF $\beta$ - Smad3 ont été reliés à l'expression de GATA-4 au niveau des surrénales (Vuorenoja *et al.*, 2007).

Figure 44: Coupes de surrénales de souris avec expression de GATA-4

*La protéine GATA-4 est exprimée dans le cortex surrénalien de souris DBA/2J et FVB/N intactes ou ayant subi une gonadectomie 0,5 et 1 mois après la chirurgie.*

*Immuno-histochimie mettant en évidence GATA-4.*

*Les cellules exprimant GATA-4 apparaissent colorées en brun foncé.*

*Coloration hematoxyline*

*Barre= 100 $\mu$ m*

*Tiré de: Bielinska *et al.*, 2003*

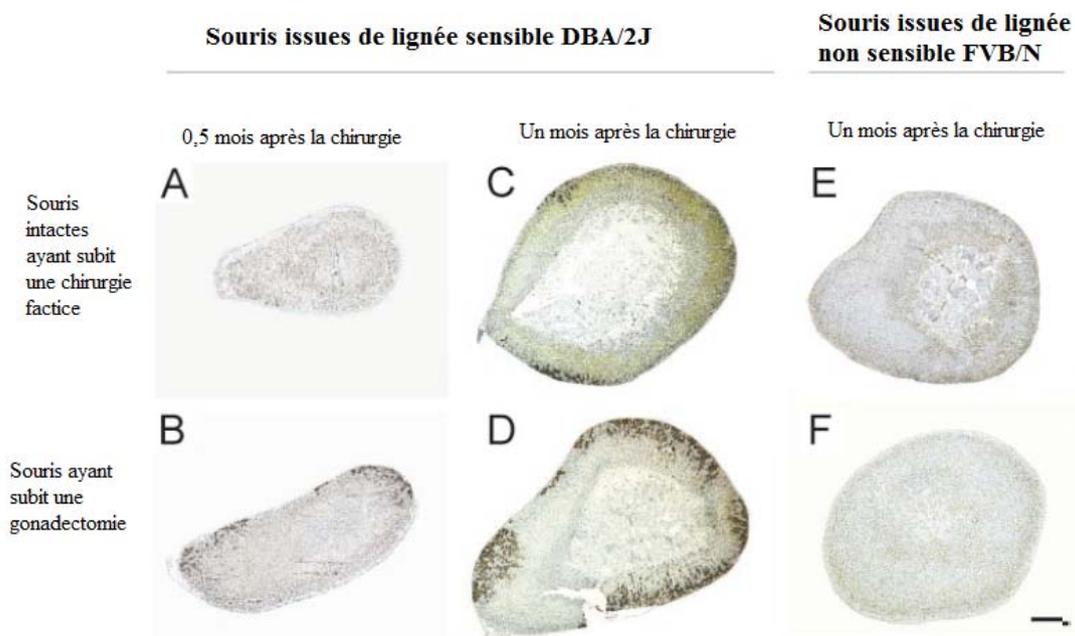


Figure 45: Carcinome corticosurrénalien de furet avec des cellules tumorales exprimant GATA-4

*L'expression de GATA-4 dans le noyau est mise en évidence dans les cellules tumorales.*

*Coloration mettant en évidence GATA-4 : GATA-4 avidin-biotine-peroxidase complexe*

*Barre = 100µm*

*Tiré de : Peterson et al., 2004*

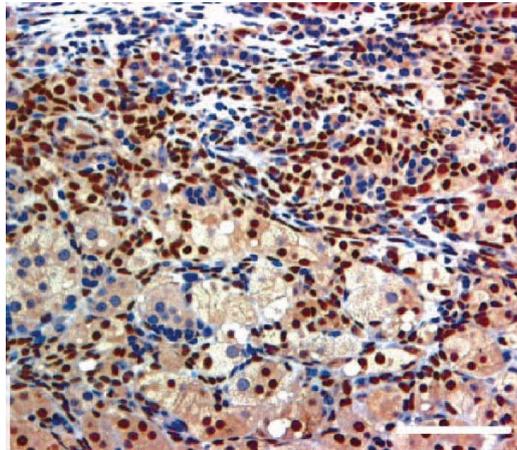


Figure 46: Carcinome corticosurrénalien de furet, avec expression forte de GATA-4

*Coloration mettant en évidence GATA-4, qui apparait alors en brun : GATA-4 avidin-biotine-peroxidase complexe*

*Une barre = 50µm*

*Tiré de: Peterson et al., 2004*

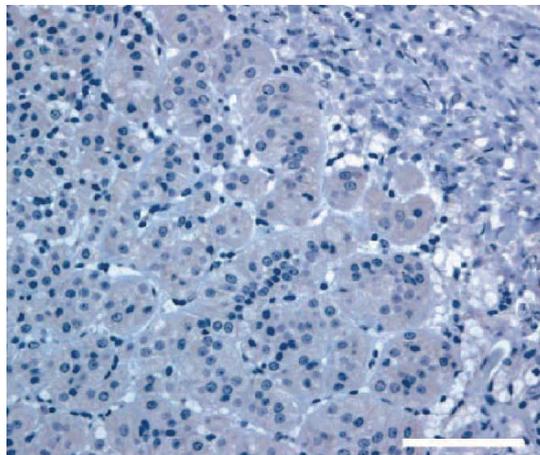


Figure 47 : Hyperplasie nodulaire corticosurrénalienne de furet sans immunoréactivité à GATA-4

*Coloration mettant en évidence GATA-4 : GATA-4 avidin-biotine-peroxidase complexe  
Une barre = 100µm*

*Tiré de: Peterson et al., 2004*

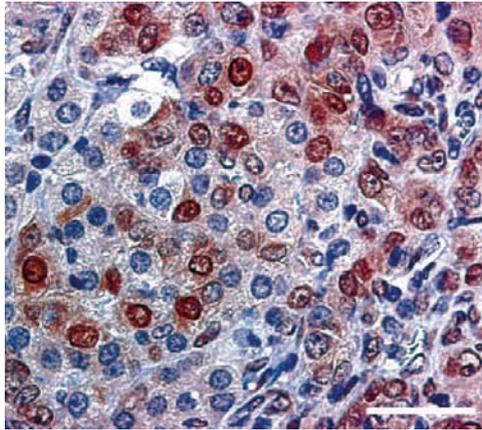


Figure 48: Adénome surrénalien de souris transgénique inhibin- $\alpha$  promoter-SV40 T-antigen gonadectomisée

Légende :

*B est un grossissement de la région encadrée en A*

*Les cellules A subcapsulaires (flèche) et les cellules carcinomateuses juxta-médullaires (cercles) expriment GATA-4 mais peu de GATA-6*

*a et b = coloration HE*

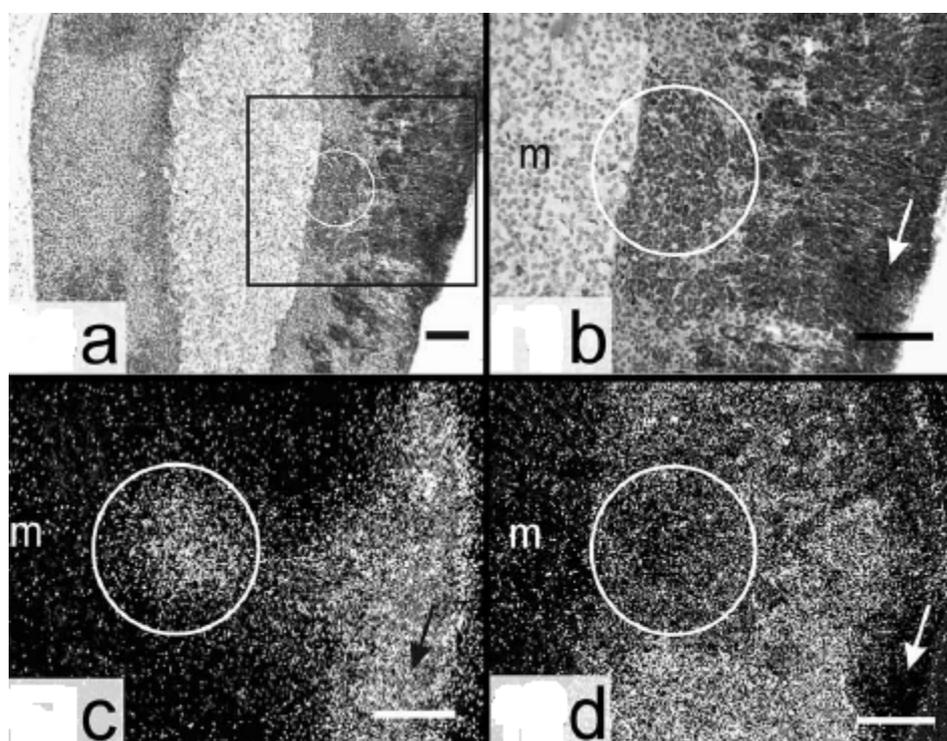
*c : hybridation in situ de GATA-4*

*d : hybridation in situ de GATA-6*

*m= medulla*

*Barre = 5,6 mm*

*Tiré de: Bielinska et al., 2006*



Peterson et al., suggèrent qu'une immunoréactivité à GATA-4 au niveau des cellules tumorales surrénaliennes serait un facteur discriminant révélant une malignité et une agressivité de la tumeur. En effet, ils ont pu constater qu'une immunoréactivité à GATA-4 était présente en majorité dans les carcinomes corticosurréniens, 86% des carcinomes étant positifs à GATA-4.

Le facteur GATA-4 serait souvent associé à la présence de récepteurs à LH et d'inhibine- $\alpha$  (Peterson et al., 2004).

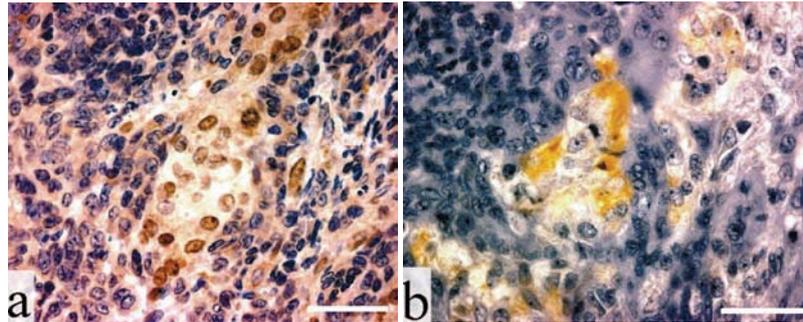
Figure 49: Carcinome corticosurrénalien de furet exprimant GATA-4 et l'inhibine  $\alpha$

*Mise en évidence de l'expression de GATA-4 au niveau nucléaire et de l'inhibine- $\alpha$  au niveau cytoplasmique dans un carcinome corticosurrénalien de furet.*

*Figure a : Coloration mettant en évidence GATA-4, qui est alors coloré en brun: GATA-4 avidin-biotine-peroxidase complexe*

*Figure b : coloration mettant en évidence de l'inhibine  $\alpha$ , colorée en brun clair*

*Une barre = 50  $\mu$ m*



L'expression de GATA-4 au niveau des tumeurs corticosurréaliennes est visible dans les trois mois suivant la gonadectomie de souris issues de lignées sensibles. Il est intéressant de noter que l'expression de GATA-6 est en contre-partie très diminuée voir absente de ces tumeurs (voir Tableau 9) (Parviainen *et al.*, 2007).

Tableau 10: Expression de gènes dans des corticales surrénaliennes murines tumorales et saines

*Expression de gènes dans les tumeurs corticosurrénaliennes de souris sensibles gonadectomisées et les cortex surrénalien normal de souris adulte.*

Légende :

LHR= récepteur à LH

AMH= hormone anti-Müllerienne

CYP17= Cytochrome P450c17

CYP19= aromatasase

nc= inconnu

Inha/Tag= souris transgéniques sensibles : Simian virus T-antigen driven by inhibine alpha promoter

Inh-/- : souris déficientes en inhibine- alpha

NU/J nude= lignée de souris sensibles

DBA = lignée de souris sensibles

Le « + » signe la présence de l'élément de la colonne de gauche, le « - » son absence

Tiré de : Parviainen et al., 2007

	Cortex surrénalien normal	Souris sensible DBA	Souris sensible NU/J nude	Inha/Tag	Inh-/-
<b>GATA-4</b>	-	+	+	+	+
<b>GATA-6</b>	+	-	-	-	-
<b>LHR</b>	-	+	+	+	+
<b>Inhibine-<math>\alpha</math></b>	+	+	+	+	-
<b>AMH</b>	-	nc	+	nc	+
<b>CYP 17</b>	-	+	+	nc	+
<b>CYP19: aromatasase</b>	-	nc	+	nc	+

Le facteur GATA-4 est un activateur de transcription de gènes impliqués dans la biosynthèse de stéroïdes sexuels, tout comme la protéine stéroïdogénique régulatrice STAR, le P450c17 et l'aromatasase. De plus, il a été montré que GATA-4 prenait part à l'expression des gènes des sous unités  $\alpha$  et  $\beta$  de l'inhibine, tout comme LHR.

Des études génétiques suggèrent que GATA-4 serait requis pour une différenciation correcte des cellules stéroïdogéniques dans les testicules fœtaux.

Il existe par ailleurs des preuves de l'action de GATA-4 en tant que facteur anti-apoptotique dans de nombreuses cellules dont les cellules gonadiques stéroïdogéniques. Dans les cellules néoplasiques, une augmentation de ce facteur pourrait mener à une augmentation de l'expression de gènes « gonado-spécifiques » disposant de sites de liaison pour GATA-4 au niveau de leurs promoteurs.

Parmi ces gènes, LHR pourrait jouer un rôle important dans le changement phénotypique de la réponse en production de stéroïdes sexuels, cette production passant d'ACTH dépendante à LH dépendante. De plus, des chercheurs soupçonnent GATA-4 de jouer un rôle dans l'induction, le maintien ou les deux du phénotype néoplasique (Bielinska et al., 2006).

Peterson et al., ont remarqué une association fréquente au niveau des carcinomes corticosurrénaux entre la présence de GATA-4 et LHR, dans une de leurs études sur 39 furets (Peterson *et al.*, 2004). L'expression de LHR au niveau des tumeurs corticosurrénales a la même distribution spatio-temporelle que GATA-4 et des études in vitro ont montré que GATA-4 induisait l'expression de LHR (Parviainen *et al.*, 2007).

## **GATA-6**

Le facteur GATA-6, un autre membre de la famille GATA est exprimé dans les cellules stéroïdogéniques des testicules, ovaires, surrénales fœtales et adultes (voir Figure 54).

Il semblerait que GATA-6 soit un régulateur de stéroïdogénèse dans les gonades mais aussi dans les surrénales, contrairement à GATA-4 (Bielinska *et al.*, 2006).

GATA-6 est particulièrement exprimé dans le tissu surrénalien humain adulte, au niveau de la zone réticulée, lieu de synthèse de la DHEA-S. Il semblerait ainsi que GATA-6 joue un rôle clé dans la régulation de l'expression des enzymes impliquées dans la synthèse de DHEA-S. Ces enzymes comprennent le facteur Star, CYP11A, CYP17 (Jimenez *et al.*, 2003).

GATA-6 active des gènes importants pour la différenciation et la fonction des cellules stéroïdogéniques mais pourrait aussi limiter la prolifération cellulaire en modulant l'expression de protéines régulatrices de cycles cellulaires. Une augmentation de GATA-6 serait corrélée à un arrêt de croissance cellulaire et une augmentation de p21Cip1, un inhibiteur de cycle cellulaire, dans de nombreux types cellulaires non stéroïdogéniques (Bielinska *et al.*, 2006).

Kiiveri *et al.*, ont analysé l'expression de GATA-6 chez quatre enfants, 35 adultes dont 24 femmes et 15 hommes, avec 22 adénomes corticosurrénaux et 17 carcinomes. Huit surrénales normales ont aussi été prélevées chez des patients sains (Kiiveri *et al.*, 2005). Les différents types de tumeurs ont été classés en quatre catégories : les tumeurs non-fonctionnelles (Nf), les tumeurs de Conn : produisant de l'aldostérone, les Cushing : produisant du cortisol, et les tumeurs virilisantes (produisant des androgènes). Ils ont remarqué que la présence de l'ARNm de GATA-6 et son expression protéique étaient significativement ( $p < 0,05$ ) diminuées au niveau des carcinomes corticosurrénaux par rapport aux cortex surrénaux normaux et aux adénomes. Cela pourrait s'expliquer par une fonction de maintien des cellules différenciées surrénales en cellules normales quiescentes de la part de GATA-6 (voir Figure 55) (Kiiveri *et al.*, 2005).

Le facteur stéroïdogénique-1 (SF-1) a été fonctionnellement lié à GATA-6. L'expression de ces deux facteurs serait corrélée au développement des tumeurs corticosurrénales. La présence de GATA-6 serait liée à l'expression de P450c17 elle-même significativement corrélée, tout comme la présence de GATA-6 avec SF-1 (Kiiveri *et al.*, 2005 ; Jimenez *et al.*, 2003). Le facteur GATA-6 régule P450c17 dans les cellules corticosurrénales humaines (Kiiveri *et al.*, 2005).

Figure 50: Coupe de glande surrénale humaine saine mettant en évidence GATA-6

*Coloration Hematoxyline et immuno-histochimie mettant en évidence GATA-6.*

*GATA-6 apparait coloré en brun*

*Grossissement X100*

*Tiré de : Kiiveri et al., 2005*

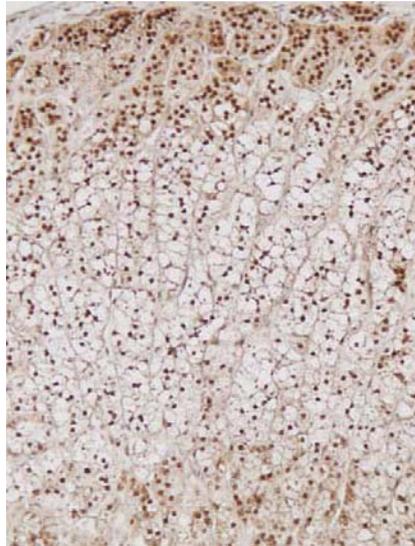


Figure 51: Coupes de tumeurs corticosurréaliennes mettant en évidence GATA-6 et SF-1

*Immuno-histochimie ciblant GATA-6 à gauche et SF-1 à droite au niveau de tumeurs corticosurréaliennes, avec des échantillons représentatifs d'adénomes et carcinomes non fonctionnels (Nonf : A, B, C), de Conn (D et E), de Cushing (F et G) et virilisants.*

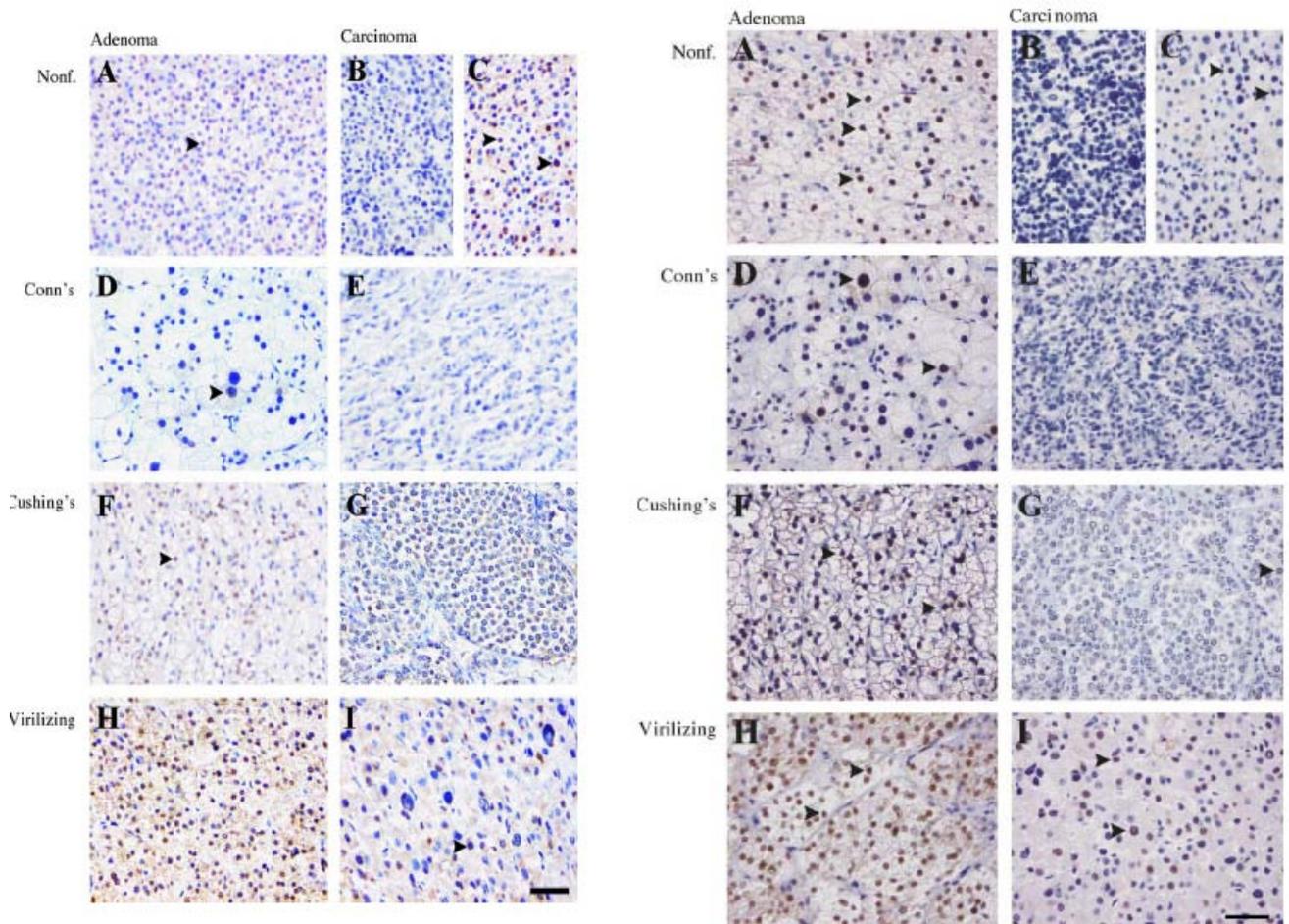
*Les cellules positives (têtes de flèches) ont leur noyau coloré en brun.*

*Section colorée à l'hématoxyline*

*Grossissement X200*

*Barre= 50 µm*

*Tiré de : Kiiveri et al., 2005*



Dans le cortex surréalien humain adulte, GATA-6 est exprimé au niveau de la zone réticulée, source majeure de la production d'androgènes au niveau de la surrénale. Il a été montré que GATA-6 agissait en synergie avec SF-1 pour maximiser l'expression de protéines

nécessaires à la production surrénalienne d'androgènes (tout comme StAR) (Kiiveri *et al.*, 2005).

**Le développement de tumeurs corticosurréaliennes chez les souris est accompagné d'une diminution de GATA-6 dans les cellules A subcapsulaires** (voir Figure 56) et une augmentation concomitante de l'expression de GATA-4 dans ces mêmes cellules (Kiiveri *et al.*, 1999 ; Bielinska *et al.*, 2006). **L'expression de GATA-6 persiste dans les cellules B**, soulignant l'importance de la production de stéroïdes sexuels. GATA-6 augmenterait la transcription de gènes impliqués dans la stéroïdogénèse en synergie avec SF-1 (Jimenez *et al.*, 2003). En effet, en synergie avec SF-1, il favoriserait la transactivation des gènes codant pour StAR, CYP11A1 (P450<sub>scc</sub>), CYP17, et SULT2A1 (déhydroepiandrosterone-sulfotransférase), tous nécessaires pour la biosynthèse de stéroïdes surréaliens. Il aurait aussi été proposé le fait qu'il favorise la transactivation de l'AMH et de l'aromatase, mais plus faiblement que GATA-4 (Parviainen *et al.*, 2007). Les mécanismes concernant les changements de GATA-4 et GATA-6 dans les cellules A ne sont pas encore bien connus, mais des études sur des souris génétiquement modifiées suggèrent que GATA-4 pourrait inhiber directement ou non l'expression de GATA-6 (Bielinska *et al.*, 2006).

Pour conclure, on peut dire que la compréhension des rôles de GATA-4 et GATA-6 et de leurs associations à diverses molécules au cours du développement et de la tumorigénèse corticosurrénalienne pourrait contribuer au développement d'outils diagnostiques et à de futures thérapies anti-tumorales (Parviainen *et al.*, 2007).

#### 4.5.4.2. Le facteur SF-1

Le facteur SF-1 est un récepteur nucléaire exprimé dans les cellules stéroïdogéniques des gonades et du cortex surrénalien et active un large spectre de gènes impliqués dans la stéroïdogénèse. Les souris déficientes en SF-1 ont un développement gonadique et surrénalien aberrant. Ce facteur de transcription agit en coopération avec GATA-4 et GATA-6 dans l'activation de gènes exprimés dans les gonades, ceci incluant le gène *Mis* et les gènes codant pour la synthèse d'enzymes stéroïdogéniques. Le facteur SF-1 est exprimé aussi bien dans les cellules surréaliennes néoplasiques que saines et n'est donc pas un marqueur spécifique de tumeur induite par gonadectomie, mais il est certainement un facteur essentiel de la production ectopique de stéroïdes sexuels par les tumeurs corticosurréaliennes. L'absence de SF-1 dans les cellules de type A suggère que ce facteur de transcription ne soit pas essentiel dans l'induction de la tumorigénèse mais soit plutôt essentiel dans le maintien du phénotype cellulaire stéroïdogénique (Bielinska *et al.*, 2006).

#### 4.5.4.3. Le facteur DAX-1

Le facteur DAX-1 est lui aussi un récepteur nucléaire se liant à SF-1 *in vitro* et ayant pour fonction la répression de la stéroïdogénèse, réprimant généralement les gènes que SF-1 active.

Chez les souris déficientes en *Dax1*, le cortex surrénalien se développe normalement et produit des hormones stéroïdes. Bielinska et ses confrères ont mis en évidence le fait que l'expression de *Dax-1* était diminuée dans les cellules néoplasiques qui s'accumulent dans le cortex surrénalien de souris gonadectomisées (Bielinska *et al.*, 2004).

Un niveau adéquat de *Dax-1* est requis pour une fonction testiculaire normale mais il semblerait que trop de *Dax-1* ait un effet anti-testiculaire: *Dax-1* inhibe la stéroïdogénèse à de

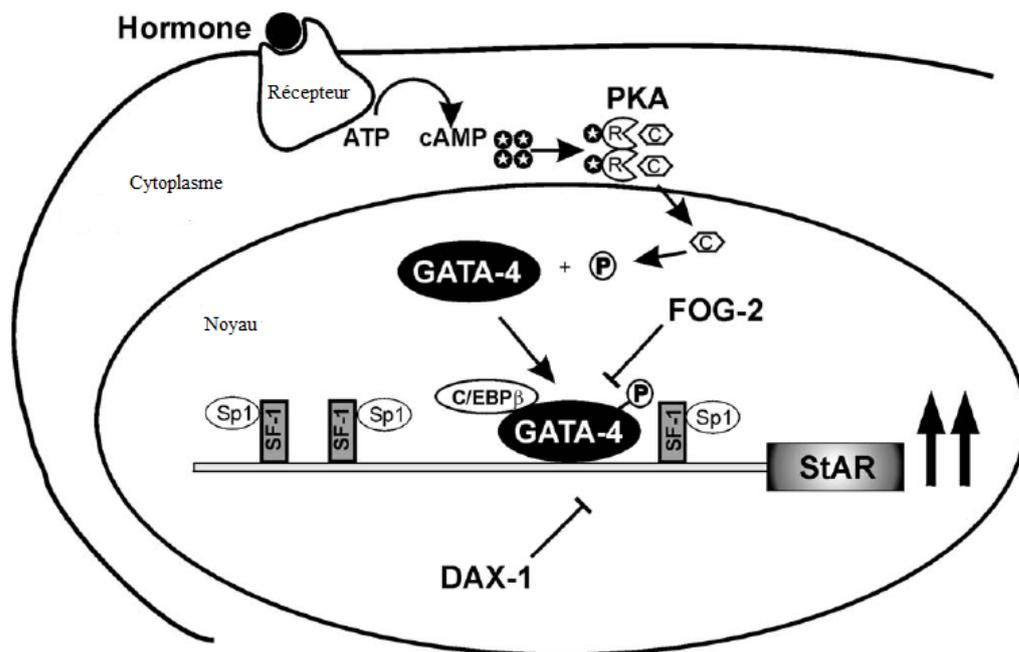
nombreux niveaux. Dax-1 interagit avec la région N-terminale avec le récepteur SF-1 en le réprimant (Tremblay et Viger, 2001). Dax-1 inhibe la transcription dépendante de SF-1 et peut inhiber la transcription de l'AMH dans les cellules de Sertoli en interférant dans la synergie entre GATA-4 et SF-1 (Tremblay et Viger, 2001).

Pour illustrer les interactions existantes entre les GATA, SF-1, LH et d'autres facteurs, on peut voir sur la Figure 56 un schéma des mécanismes moléculaires se produisant au niveau de la cellule corticosurrénaliennne. Sur ce schéma, LH se lie à son récepteur, ce qui mène à une augmentation d'AMP cyclique (cAMP : le cercle noir avec l'étoile blanche) qui se lie à une sous unité régulatrice de PKA (R), ce qui permet la dissociation de la sous unité catalytique © et sa translocation au noyau, où les facteurs de transcription cibles sont phosphorylés, incluant GATA-4. SF-1 est essentiel pour l'expression basale de StAR et se lie à un autre facteur de transcription largement exprimé : Sp1.

Figure 52 : Schéma de régulation de l'expression de StAR

*C/EBP $\beta$  (CCAAT-enhancer binding protein) agit en synergie avec GATA-4. DAX-1 et FOG-2 en fonctionnant comme répresseurs.*

*Tiré de : Bielinska et al., 2006*



#### 4.5.5. Les facteurs génétiques

Des facteurs génétiques semblent jouer un rôle important dans les tumeurs corticosurrénaliennes et dans leur potentiel bénin ou malin (Kjellman et al., 1996). Les tumeurs corticosurrénaliennes ne se développent que chez une minorité de furets stérilisés, suggérant des différences génétiques, peut-être involontairement sélectionnées par l'élevage, influençant la susceptibilité du tissu surrénalien à subir des transformations néoplasiques

(Bielinska *et al.*, 2006). Il en est de même pour les souris. En effet, des études sur les souris transgéniques inhibin- $\alpha$  promoter-SV40 T antigen ont démontré qu'une expression forcée d'un oncogène dans la surrénale pouvait diminuer la probabilité de formation de tumeur induite par gonadectomie (Bielinska *et al.*, 2006 ; Bernichtein *et al.*, 2008).

De même, des expériences de transplantation d'organes entre lignées de souris ont suggéré la possibilité que la prédisposition à développer une tumeur surrénalienne induite par gonadectomie réside dans le tissu surrénalien lui-même. En effet, des surrénales pré-pubères transplantées d'une lignée murine sensible à une lignée non sensible développaient des tumeurs (Huseby *et al.*, 1951 ; Tullos *et al.*, 1960 ; Bielinska *et al.*, 2006 ; Bernichtein *et al.*, 2008).

Il est, de plus, intéressant de constater qu'en général, les lignées de souris produisant peu de stéroïdes comme CE et DBA/2J, présentant de même une faible fertilité, sont sensibles à la tumorigénèse induite par gonadectomie alors que les lignées de souris comme C57BL/6 produisant beaucoup de stéroïdes et ayant des performances reproductrices supérieures sont résistantes à la tumorigénèse induite par gonadectomie. On peut voir sur la Figure 57 des coupes de surrénales de souris de lignée sensible (DBA/2J) et non sensible (FVB/N) deux et six mois après gonadectomie, que les souris sensibles développent des cellules anormales A et B qui s'accumulent dans la région sous-capsulaire de la surrénale (Bielinska *et al.*, 2003 ; Bielinska *et al.*, 2006).

Figure 53: Modifications morphologiques de surrénales de souris après gonadectomie

*Modifications morphologiques de surrénales de souris DBA/2J (lignée sensible) et FVB/N (lignée non sensible) gonadectomisées, deux et six mois après la gonadectomie.*

*Colonne de gauche : lignée de souris sensibles DBA/2J*

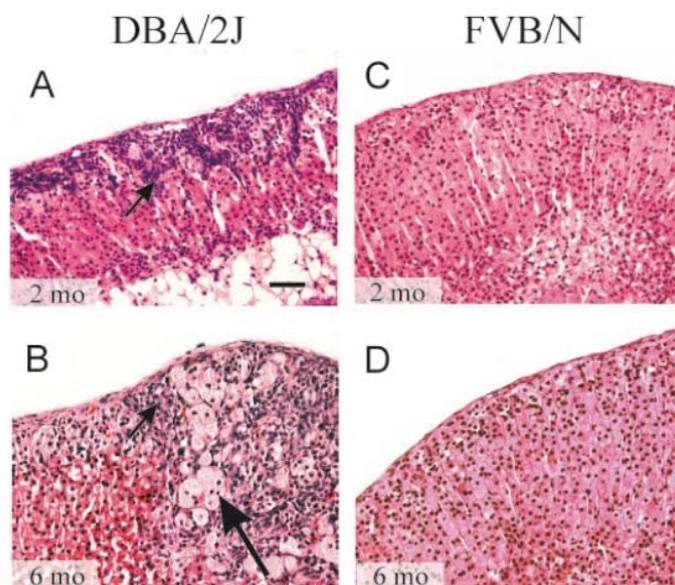
*Colonne de droite : lignée de souris non sensibles FVB/N*

Légende :

*Petite flèche : cellules A fusiformes*

*Large flèche : Cellule B riches en lipides*

*Tiré de : Bielinska et al., 2003*



**Il semblerait que ce soit un polymorphisme dans la séquence codante pour SF-1 qui soit discriminante entre ces deux lignées sensibles ou non.** Bien que les conséquences de ce polymorphisme ne soient pas encore connues, une telle mutation pourrait altérer la capacité de SF-1 à réguler la spécification de la lignée surrénalienne et non gonadique, soit directement, soit via des interactions avec d'autres facteurs de transcription (Bielinska *et al.*, 2006). Il est possible que des données génétiques puissent jouer sur la sensibilité du tissu surrénalien à des facteurs paracrines ou à des hormones de la reproduction comme LH et l'activine. De tels changements pourraient favoriser la prolifération ou la survie cellulaire et prédisposer des cellules à acquérir des mutations activant des oncogènes ou des gènes suppresseurs de tumeur (Bielinska *et al.*, 2006).

Dans une étude rapportée par Bernichtein et al (Bernichtein *et al.* 2008 ; Fekete *et al.*, 1941) il a été montré que des souris DBA/2J (au nombre de treize dans l'étude) développaient des tumeurs corticosurrénales six mois après l'ovariectomie (faite au stade pré-pubère) avec une pénétrance de 100% tandis que des souris non sensibles C57BL/6J (au nombre de onze dans l'étude) ne développaient jamais de tumeur corticosurrénalienne après ovariectomie et conservaient une organisation corticale normale (voir Figure 58 et Figure 58). L'auteur en a conclu que ces différences entre lignées de souris suggéreraient une composante génétique

prépondérante prédisposant les souris à une réponse surrénalienne à la gonadectomie (Bernichtein *et al.*, 2008 et 2009).

Figure 54: Développement d'une tumeur corticosurrénalienne

*Coupe d'un cortex surrénalien d'une souris DBA/2J (lignée sensible) ayant subi une ovariectomie avant la puberté, six mois après la chirurgie*

*Les flèches désignent une accumulation de cellules A et les têtes de flèche des cellules B riches en lipides, ces cellules étant des signes de tumorigénération du cortex.*

*Coloration HE*

*Tiré de : BBernichtein et al., 2008b*

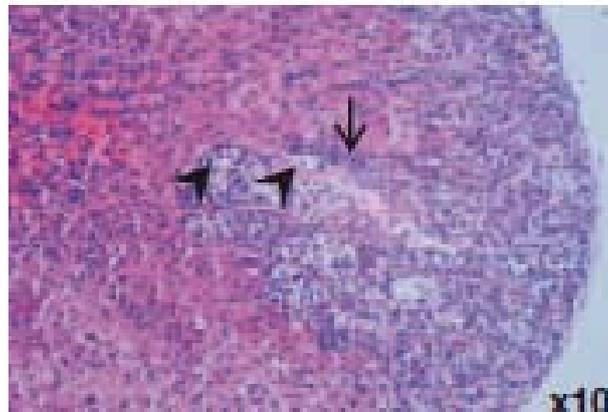


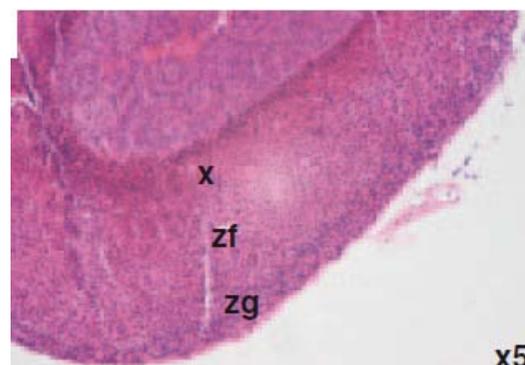
Figure 55: Cortex surrénalien d'une souris C57BL/6J gonadectomisée

*Cortex surrénalien d'une souris C57BL/6J ayant subi une ovariectomie avant la puberté, six mois après la chirurgie.*

*Organisation normale du cortex surrénalien avec conservation des zones glomérulée (ZG), fasciculée (ZF) et zone X (x).*

*Coloration HE*

*Tiré de Bernichtein et al., 2008b*



Une étude de Bernichtein et al., montrerait que, chez les souris, le stade tumoral relèverait d'une hérédité monogénique et suggérerait un contrôle génétique tumoral par un seul gène (Bernichtein et al., 2008). Cependant, une étude en deux dimensions du génome a révélé que la tumorigenèse corticosurrénale impliquerait une composante poly-génétique. Cette étude suggère que le gène principal se situerait au niveau du chromosome 8, et serait modulé par un autre gène situé sur le chromosome 18 par épistaxie (Bernichtein et al., 2008 ; Bernichtein 2009). Parmi les gènes candidats sur ce chromosome 8, le gène *Sfrp1* serait, selon Bernichtein, un bon candidat car ce gène suppresseur de tumeur est impliqué dans la chaîne de signalisation de Wnt qui a déjà été suggéré comme un candidat potentiel à la tumorigenèse corticosurrénale chez les souris (Bernichtein et al., 2008). Bernichtein a fait des analyses d'associations ayant permis de mettre en évidence un QTL LOD score de 5,6, hautement significatif sur le chromosome 8 pour la tumorigenèse, sans preuve de lien pour les gènes de LHR (*Lhcgr* sur le chromosome 17) ou GATA-4 (*Gata-4* sur le chromosome 14) (Bernichtein et al., 2008).

La rapide expansion de données sur le génome chez les souris a donné un moyen de caractériser les allèles et les modificateurs génétiques influençant la néoplasie corticosurrénale induite par gonadectomie (c'est-à-dire les gènes promoteurs de tumeur qui provoquent des perturbations épigénétiques dans les cellules souches/germinales). Un suivi d'analyses croisées entre des lots de souris sensibles (DBA/2J) et non sensibles (C57BL/6J) a montré que la tumorigenèse post-gonadectomie chez les souris DBA/2J constituait un trait dominant et que le locus principal pour cette tumorigenèse était sur le chromosome 8 (Bielinska et al., 2009).

Un des gènes candidats permet la production de Frizzled-related Protein 1: sFRP1 (Bielinska et al., 2006) un suppresseur de tumeur qui inhibe la cascade de signalisation Wnt/ $\beta$ -caténine. Mais bien que *Sfrp 1* soit un gène candidat attractif pour la tumorigenèse, aucune mutation causale n'a été identifiée dans les régions codantes ou non codantes du gène chez les souris DBA/2J. Une proportion significative de souris F2 non affectées portait l'allèle DBA/2J sur le chromosome 8, et des analyses d'épistaxie ont suggéré que de multiples interactions entre les loci des gènes contribuaient au phénotype. Plus de 30% des souris F2 ayant développé des tumeurs étaient homozygotes pour l'allèle C57BL/6J sur le chromosome 8, indiquant que d'autres gènes étaient impliqués dans la tumorigenèse (Bielinska et al., 2006 ; Bernichtein et al., 2007).

La protéine *Sfrp1* est exprimée dans le cortex surrénal normal tandis que son expression est clairement supprimée dans les aires néoplasiques. Il a été mis en évidence une expression différentielle de *Sfrp1* au niveau des zones tumorales : en effet les cellules A ne l'expriment pas tandis que les cellules B l'expriment. Cette découverte peut être significative si l'on considère l'hypothèse de Looyenga et Hammer selon laquelle les cellules A dérivent de la même zone corticale à partir de cellules souches pluripotentes et que la tumorigenèse corticosurrénale pourrait être un exemple de métaplasie de cellules souches (Bernichtein et al., 2009).

#### 4.6. Observations concernant l'Homme

À l'autopsie, des anomalies corticosurrénales sont découvertes dans environ 4% de la population et 5% des hommes et femmes âgés. Des adénomes et carcinomes corticosurrénaux surviennent dans le monde à un taux de trois à quatre millions par an, étant plus fréquent chez les femmes que chez les hommes. Comme chez les souris, quelques cellules néoplasiques humaines sont issues de la région subcapsulaire du cortex surrénal sous une influence de taux de gonadotrophine élevés. De telles tumeurs ont été appelées

« métaplasie thécale » à cause de leur similarité histologique avec les cellules interstitielles de la thèque ovarienne et leur occasionnelle production de stéroïdes sexuels (Bernichtein *et al* 2008 ; Libé et Bertherat 2005).

Comme chez les furets et les souris, des tumeurs corticosurréaliennes humaines semblent être influencées par le milieu hormonal et les sensibilités inhérentes à la surrénale elle-même. Des tumeurs corticosurréaliennes sous-capsulaires contenant des figures histologiques similaires à du stroma ovarien lutéinisé ont été rapportées chez des femmes ménopausées et chez des hommes ayant une atrophie testiculaire acquise. Ceci suggère que des changements hormonaux associés avec une déficience gonadique (par exemple, un taux élevé de LH ou une diminution de stéroïdes sexuels) pourraient contribuer au développement de tumeur chez l'Homme (Bielinska *et al.*, 2006 ; Mijnhout *et al.*, 2004)

Des maladies de Cushing LH-dépendantes et des tumeurs surréaliennes LH-dépendants sécrétant des androgènes ont été décrites chez l'Homme. Des patients ayant un syndrome de Cushing LH-dépendant avaient des hyperplasies surréaliennes macronodulaires avec des concentrations en cortisol plasmatiques élevées et une suppression des concentrations avec l'ACTH (Schoemaker *et al.*, 2002b ; Christopoulos *et al.*, 2005).

Des expériences ont mis en évidence l'expression de LH-R dans le cortex surréalien et que des taux élevés de LH pouvaient stimuler la croissance et la stéroïdogénèse du cortex surréalien. Des niveaux bas de LH-R peuvent être détectés dans un cortex surréalien humain normal. Quelques personnes présentaient des tumeurs surréaliennes exprimant ectopiquement une protéine G couplée à des récepteurs (ceci incluant les LH-R) et répondant excessivement à une stimulation gonadotrope. De telles tumeurs se développent souvent quand le taux d'hormones gonadotrophes est chroniquement élevé, comme chez les femmes ménopausées. De manière intéressante, les syndromes de Cushing ACTH-indépendants associés à la grossesse et un excès de cortisol présentent aussi des effets directs de LH sur le cortex surréalien (Bernichtein *et al.*, 2008 ; Feelders *et al.*, 2003).

Des analyses sur l'hérédité ou la spontanéité de tumeurs corticosurréaliennes chez l'Homme ont mis en évidence des altérations au niveau des récepteurs de surfaces cellulaires ou de leurs effecteurs sous jacents, ce qui rendrait le tissu corticosurréalien plus susceptible de subir des transformations néoplasiques associées à une sécrétion hormonale.

Dans la majorité des cas, ces altérations génétiques mènent à des tumeurs corticosurréaliennes produisant un excès de glucocorticoïdes, mais dans quelques cas, notamment des cas impliquant de jeunes enfants, les tumeurs corticosurréaliennes produisent une quantité importante de stéroïdes sexuels et d'inhibine  $\alpha$ , tout comme les tumeurs des furets et souris gonadectomisées.

Les modèles murins, couplés à une rapide expansion des données génomiques sur les séquences ADN et les polymorphismes nucléotidiques dans de nombreuses lignées, constituent un moyen de caractériser les allèles et les modifications génétiques influençant les néoplasies corticosurréaliennes induites par gonadectomie. De plus, ces modèles vont faciliter les études sur les chemins de signalisations qui contrôlent la décision du destin cellulaire dans les lignées de cellules stéroïdogéniques normales et néoplasiques (Bielinska *et al.*, 2006).

La Figure 56 expose un récapitulatif des interactions moléculaires intervenant dans la mise en place de la maladie surréalienne.

Figure 56 : Schéma bilan des interactions moléculaires surrénaliennes intervenant dans la maladie surrénalienne

**Légende :**

- Active
- Inhibe
- ⇒ Active la transcription

